

## PCT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C. 20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing (day/month/year)</b> 24 August 2000 (24.08.00)	<b>Applicant's or agent's file reference</b> P10000PC00
<b>International application No.</b> PCT/NL99/00804	<b>Priority date (day/month/year)</b> 06 January 1999 (06.01.99)
<b>International filing date (day/month/year)</b> 24 December 1999 (24.12.99)	
<b>Applicant</b> HULST, Anne, Coenraad et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

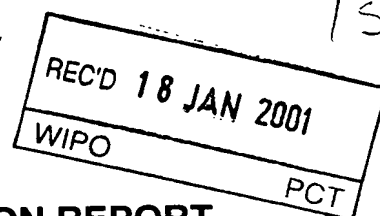
☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

17 July 2000 (17.07.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer Pascal Piriou</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	---



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference P10000PC00	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/NL99/00804	International filing date (day/month/year) 24/12/1999	Priority date (day/month/year) 06/01/1999
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC D01B1/42		
Applicant COÖPERATIEVE VERKOOP- EN PRODUCTIE ... et al.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.


2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.

- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand  17/07/2000	Date of completion of this report  16.01.2001
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:   European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Authorized officer  Auer, H  Telephone No. +49 89 2399 2054



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No. PCT/NL99/00804

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(substitute sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).):*

### Description, pages:

1-30 as originally filed

### Claims, No.:

1-18 as originally filed

### Drawings, sheets:

1/7-7/7 as originally filed

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:

**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/NL99/00804

☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):

*(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)*

6. Additional observations, if necessary:

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	1-18
	No:	Claims	

Inventive step (IS)	Yes:	Claims	1-18
	No:	Claims	

Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-18
	No:	Claims	

2. Citations and explanations  
**see separate sheet**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

---

International application No. PCT/NL99/00804

ad V:

1. Most relevant prior art is cited in the description which discloses a method of the separation and recovery of components of vegetable raw material (see US-A-5464160).

The problem of the present invention is to achieve a better access to the plant cell with a higher efficiency which makes the cytosol fraction more available for recovery and affords better marketing possibilities for the fibre-containing residual material.

The solution is given by the combination of features of claim 1, i.e. in particular that the juice stream comprises soft tissues such as parenchyma and cytosol.

There is no hint in US-A-5464160 for this solution nor in the other documents cited in the search report which disclose only technological background.

Claim 1 is, therefore, in line with Articles 33(2) and (3) PCT.

2. The subject-matter of the dependent claims contain further embodiments of the invention and is also in combination with the independent claims novel and inventive (Articles 33(2) and (3) PCT).

From the  
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

Gen GRC GEN  
3 JAN 2001

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF  
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT  
(PCT Rule 71.1)

To:

VEREENIGDE  
Nieuwe Parklaan 97

2587 BN Den Haag  
PAYS-BAS

18 JAN. 2001

Beantwoord

bericht gezonden  
aan

voorf.

dd.

def.

Applicant's or agent's file reference

MAP

P10000PC00

Date of mailing

(day/month/year)

16.01.2001

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.  
PCT/NL99/00804

International filing date (day/month/year)  
24/12/1999

Priority date (day/month/year)  
06/01/1999

Applicant

COÖPERATIEVE VERKOOP- EN PRODUCTIE ... et al.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. REMINDER

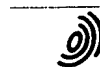
The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

*Daarvoor (standaard fees) IPEER  
+  
warsch L*

Name and mailing address of the IPEA/



European Patent Office  
D-80298 Munich  
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized officer

Ghellere, M

Tel. +49 89 2399-2053



# PATENT COOPERATION TREATY

# PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference <b>P10000PC00</b>	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. <b>PCT/NL99/00804</b>	International filing date ( <i>day/month/year</i> ) <b>24/12/1999</b>	Priority date ( <i>day/month/year</i> ) <b>06/01/1999</b>
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC <b>D01B1/42</b>		
Applicant <b>COÖPERATIEVE VERKOOP- EN PRODUCTIE ... et al.</b>		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.
- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand  <b>17/07/2000</b>	Date of completion of this report  <b>16.01.2001</b>
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  <div style="display: flex; align-items: center;"> <div>             European Patent Office              D-80298 Munich              Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d              Fax: +49 89 2399 - 4465           </div> </div>	Authorized officer  <b>Auer, H</b>  Telephone No. +49 89 2399 2054



**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/NL99/00804

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of *(substitute sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).):*

**Description, pages:**

1-30 as originally filed

**Claims, No.:**

1-18 as originally filed

**Drawings, sheets:**

1/7-7/7 as originally filed

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No. PCT/NL99/00804

☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)).

*(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)*

6. Additional observations, if necessary:

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	1-18
	No:	Claims	
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	1-18
	No:	Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-18
	No:	Claims	

### 2. Citations and explanations see separate sheet

ad V:

1. Most relevant prior art is cited in the description which discloses a method of the separation and recovery of components of vegetable raw material (see US-A-5464160).

The problem of the present invention is to achieve a better access to the plant cell with a higher efficiency which makes the cytosol fraction more available for recovery and affords better marketing possibilities for the fibre-containing residual material.

The solution is given by the combination of features of claim 1, i.e. in particular that the juice stream comprises soft tissues such as parenchyma and cytosol.

There is no hint in US-A-5464160 for this solution nor in the other documents cited in the search report which disclose only technological background.

Claim 1 is, therefore, in line with Articles 33(2) and (3) PCT.

2. The subject-matter of the dependent claims contain further embodiments of the invention and is also in combination with the independent claims novel and inventive (Articles 33(2) and (3) PCT).

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

RECORD COPY

For receiving Office use only	
PCT/NL	99/00804
International Application No.	
24 DEC 1999	
International Filing Date	
BUREAU VOOR DE INDUSTRIËLE EIGENDOM	
P.C.T. INTERNATIONAL APPLICATION	
Name of receiving Office and "PCT International Application"	
Applicant's or agent's file reference	
(if desired) (12 characters maximum) P10000PC00	

Box No. I TITLE OF INVENTION

Accessing leaf and/or stem parts of plants

Box No. II APPLICANT

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Coöperatieve Verkoop- en Productievereniging van Aardappelmeel en  
Derivaten AVEBE B.V. A  
Beneden Oosterdiep 27  
9641 JA Veendam  
The Netherlands

☐ This person is also inventor.

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

State (that is, country) of nationality:  
NL

State (that is, country) of residence:  
NL

This person is applicant  
for the purposes of:

☐ all designated  
States

☒ all designated States except  
the United States of America

☐ the United States  
of America only

☐ the States indicated in  
the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Hulst, Anne Coenraad  
Julianalaan 57  
9461 BS Gieten  
The Netherlands

This person is:

☐ applicant only

☒ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box  
is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:  
NL

State (that is, country) of residence:  
NL

This person is applicant  
for the purposes of:

☐ all designated  
States

☐ all designated States except  
the United States of America

☒ the United States  
of America only

☐ the States indicated in  
the Supplemental Box

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf  
of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

☒ agent

☐ common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

Mr Drs S.U.Ottevangers, c.s.

c/o VEREENIGDE OCTROOIBUREAUX  
Nieuwe Parklaan 97  
2587 BN The Hague  
The Netherlands

Telephone No.

070-4166711

Facsimile No.

070-4166799

Teleprinter No.

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANTS AND/OR (FURTHER) INVENTORS	
<i>If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.</i>	
<p><small>Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</small></p> <p>Ketelaars, Jan Josef Maria Hubert Torckpark 40 6701 ED Wageningen The Netherlands</p>	<p>This person is:</p> <p><input type="checkbox"/> applicant only</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> applicant and inventor</p> <p><input type="checkbox"/> inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)</p>
State (that is, country) of nationality: NL	State (that is, country) of residence: NL
<p>This person is applicant for the purposes of: <input type="checkbox"/> all designated States <input type="checkbox"/> all designated States except the United States of America <input checked="" type="checkbox"/> the United States of America only <input type="checkbox"/> the States indicated in the Supplemental Box</p>	
<p><small>Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</small></p> <p>Sanders, Johan Pieter Marinus Saaksumberg 1 9722 WL Groningen The Netherlands</p>	<p>This person is:</p> <p><input type="checkbox"/> applicant only</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> applicant and inventor</p> <p><input type="checkbox"/> inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)</p>
State (that is, country) of nationality: NL	State (that is, country) of residence: NL
<p>This person is applicant for the purposes of: <input type="checkbox"/> all designated States <input type="checkbox"/> all designated States except the United States of America <input checked="" type="checkbox"/> the United States of America only <input type="checkbox"/> the States indicated in the Supplemental Box</p>	
<p><small>Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</small></p>	<p>This person is:</p> <p><input type="checkbox"/> applicant only</p> <p><input type="checkbox"/> applicant and inventor</p> <p><input type="checkbox"/> inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)</p>
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
<p>This person is applicant for the purposes of: <input type="checkbox"/> all designated States <input type="checkbox"/> all designated States except the United States of America <input type="checkbox"/> the United States of America only <input type="checkbox"/> the States indicated in the Supplemental Box</p>	
<p><small>Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</small></p>	<p>This person is:</p> <p><input type="checkbox"/> applicant only</p> <p><input type="checkbox"/> applicant and inventor</p> <p><input type="checkbox"/> inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)</p>
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
<p>This person is applicant for the purposes of: <input type="checkbox"/> all designated States <input type="checkbox"/> all designated States except the United States of America <input type="checkbox"/> the United States of America only <input type="checkbox"/> the States indicated in the Supplemental Box</p>	
<p><input type="checkbox"/> Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.</p>	

**Box No.V DESIGNATION OF STATES**

The following designations are to be made under Rule 4.9(a) (mark the applicable check-boxes; at least one must be marked):

**Regional Patent**

- ☒ **AP ARIPO Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swaziland, UG Uganda, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT
- ☒ **EA Eurasian Patent:** AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- ☒ **EP European Patent:** AT Austria, BE Belgium, CH and LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☒ **OA OAPI Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)

**National Patent** (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

- |  |  |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> AL Albania                               | <input checked="" type="checkbox"/> LS Lesotho   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM Armenia                               | <input checked="" type="checkbox"/> LT Lithuania   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT Austria                               | <input checked="" type="checkbox"/> LU Luxembourg  |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australia                             | <input checked="" type="checkbox"/> LV Latvia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ Azerbaijan                            | <input checked="" type="checkbox"/> MD Republic of Moldova                                     |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnia and Herzegovina                | <input checked="" type="checkbox"/> MG Madagascar  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados                              | <input checked="" type="checkbox"/> MK The former Yugoslav Republic of Macedonia               |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgaria                              |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR Brazil                                | <input checked="" type="checkbox"/> MN Mongolia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY Belarus                               | <input checked="" type="checkbox"/> MW Malawi  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Canada                                | <input checked="" type="checkbox"/> MX Mexico  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH and LI Switzerland and Liechtenstein  | <input checked="" type="checkbox"/> NO Norway  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN China                                 | <input checked="" type="checkbox"/> NZ New Zealand   |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU Cuba                                  | <input checked="" type="checkbox"/> PL Poland  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ Czech Republic                        | <input checked="" type="checkbox"/> PT Portugal  |
| <input checked="" type="checkbox"/> DE Germany                               | <input checked="" type="checkbox"/> RO Romania   |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK Denmark                               | <input checked="" type="checkbox"/> RU Russian Federation                                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE Estonia                               | <input checked="" type="checkbox"/> SD Sudan   |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES Spain                                 | <input checked="" type="checkbox"/> SE Sweden  |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI Finland                               | <input checked="" type="checkbox"/> SG Singapore   |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB United Kingdom                        | <input checked="" type="checkbox"/> SI Slovenia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GD Grenada                               | <input checked="" type="checkbox"/> SK Slovakia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE Georgia                               | <input checked="" type="checkbox"/> SL Sierra Leone  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana                                 | <input checked="" type="checkbox"/> TJ Tajikistan  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GM Gambia                                | <input checked="" type="checkbox"/> TM Turkmenistan  |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR Croatia                               | <input checked="" type="checkbox"/> TR Turkey  |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU Hungary                               | <input checked="" type="checkbox"/> TT Trinidad and Tobago                                     |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID Indonesia                             | <input checked="" type="checkbox"/> UA Ukraine   |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL Israel                                | <input checked="" type="checkbox"/> UG Uganda  |
| <input checked="" type="checkbox"/> IN India                                 | <input checked="" type="checkbox"/> US United States of America                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS Iceland                               |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan                                 | <input checked="" type="checkbox"/> UZ Uzbekistan  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE Kenya                                 | <input checked="" type="checkbox"/> VN Viet Nam  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG Kyrgyzstan                            | <input checked="" type="checkbox"/> YU Yugoslavia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KP Democratic People's Republic of Korea | <input checked="" type="checkbox"/> ZW Zimbabwe  |
|  |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR Republic of Korea                     |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ Kazakhstan                            |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC Saint Lucia                           | <input checked="" type="checkbox"/> TZ United Republic of Tanzania                             |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka                             | <input checked="" type="checkbox"/> CR Costa Rica  |
| <input checked="" type="checkbox"/> LR Liberia                               | <input checked="" type="checkbox"/> DM Dominica <input checked="" type="checkbox"/> MA Morocco |

Check-boxes reserved for designating States (for the purposes of a national patent) which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

**Precautionary Designation Statement:** In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying that designation and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

Box No. VI PRIORITY CLAIM		<input type="checkbox"/> Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.		
Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country	regional application: regional Office	international application: receiving Office
item (1) <b>RC</b> 6 January 1999	1010975	NL		
item (2)				
item (3)				

☐ The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office identified above as item(s))

\* Where the earlier application is an ARIPO application, it is mandatory to indicate in the Supplemental Box at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)). See Supplemental Box.

### Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

**Choice of International Searching Authority (ISA)**  
(if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):

ISA / EP

**Request to use results of earlier search; reference to that search** (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):

Date (day/month/year)

28 September 1999

Number

SN 32746 NL

Country (or regional Office)

NL

### Box No. VIII CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING

This international application contains the following number of sheets:

request : 4

description (excluding sequence listing part) : 34

claims : 2

abstract : 1

drawings : 7

sequence listing part of description : \_\_\_\_\_

Total number of sheets : 48

This international application is accompanied by the item(s) marked below:

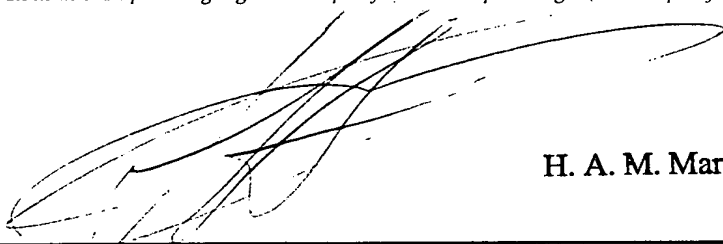
1. ☒ fee calculation sheet
2. ☐ separate signed power of attorney
3. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any:
4. ☐ statement explaining lack of signature
5. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):
6. ☐ translation of international application into (language):
7. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material
8. ☐ nucleotide and/or amino acid sequence listing in computer readable form
9. ☐ other (specify):

Figure of the drawings which should accompany the abstract:

Language of filing of the international application: English

### Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).



H. A. M. Marsman

For receiving Office use only		2. Drawings: <input checked="" type="checkbox"/> received:  <input type="checkbox"/> not received:
1. Date of actual receipt of the purported international application:	24 DEC 1999 24.12.99	
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:		
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):		
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /	6. <input type="checkbox"/> Transmittal of search copy delayed until search fee is paid.	

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

27 JANUARY 2000

(27.01.00)



Fig. 1

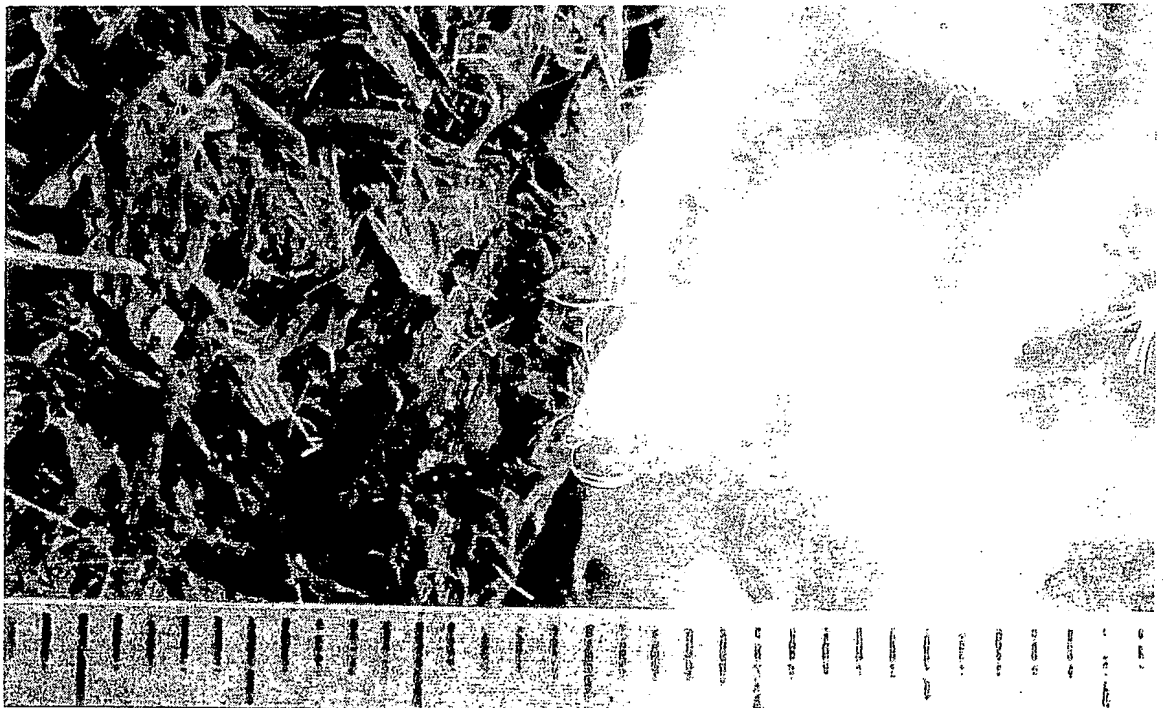


Fig. 2

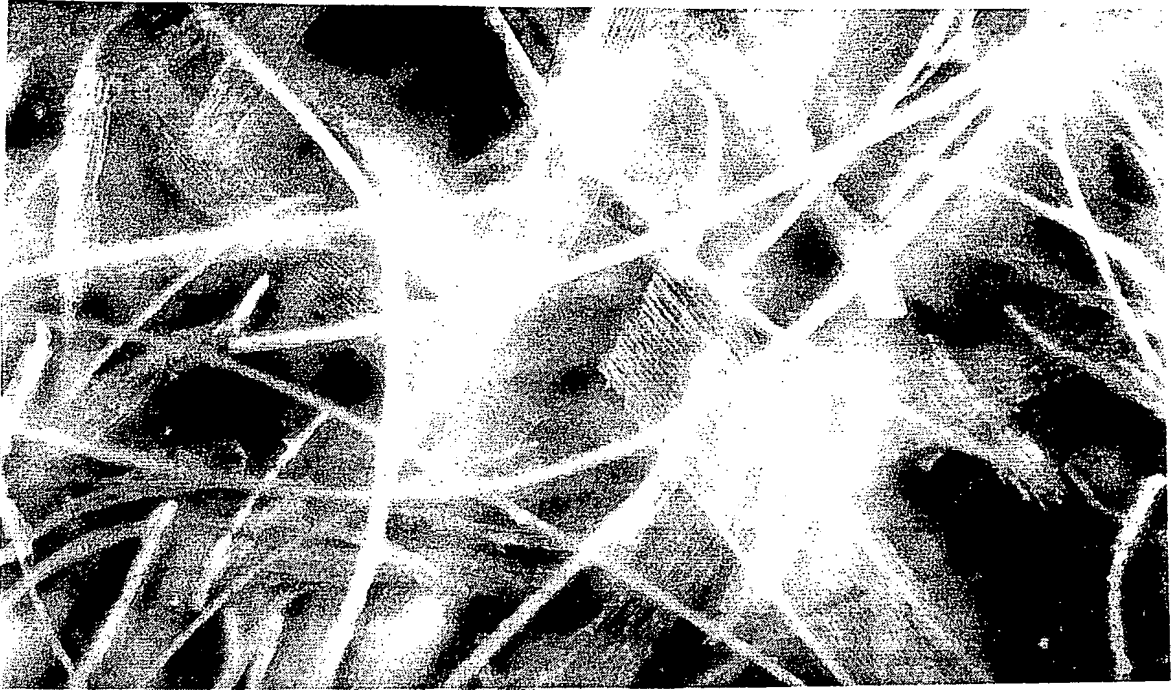


Fig. 3

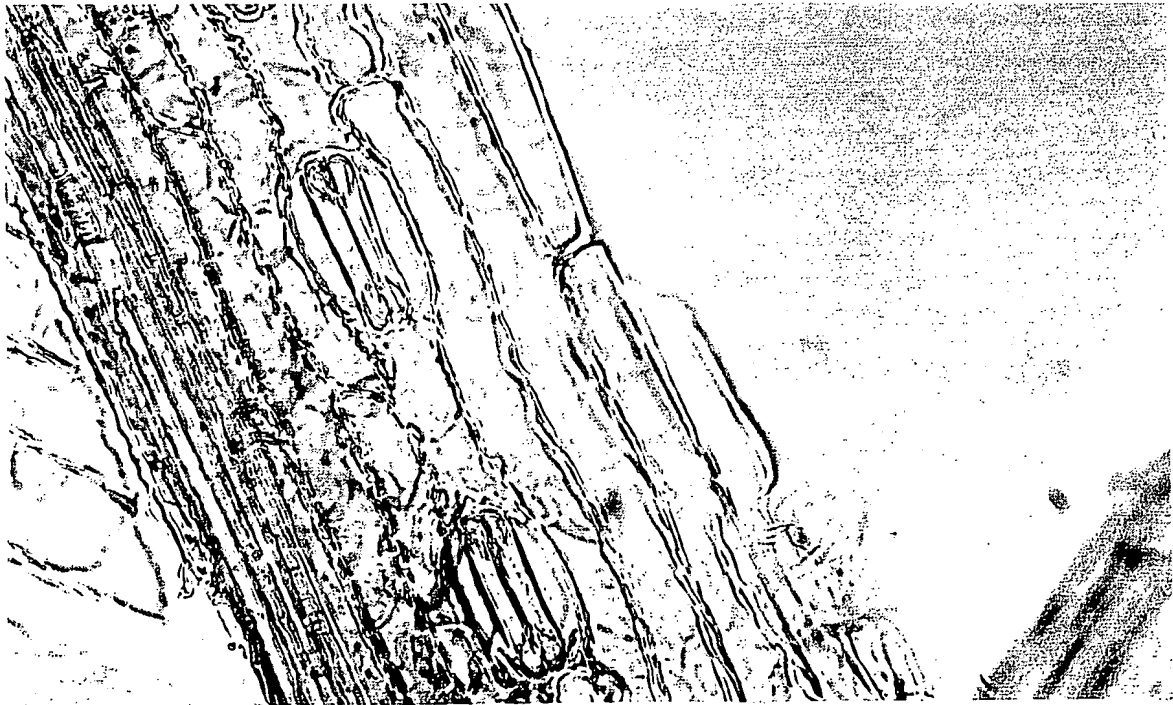


Fig. 4



3/7

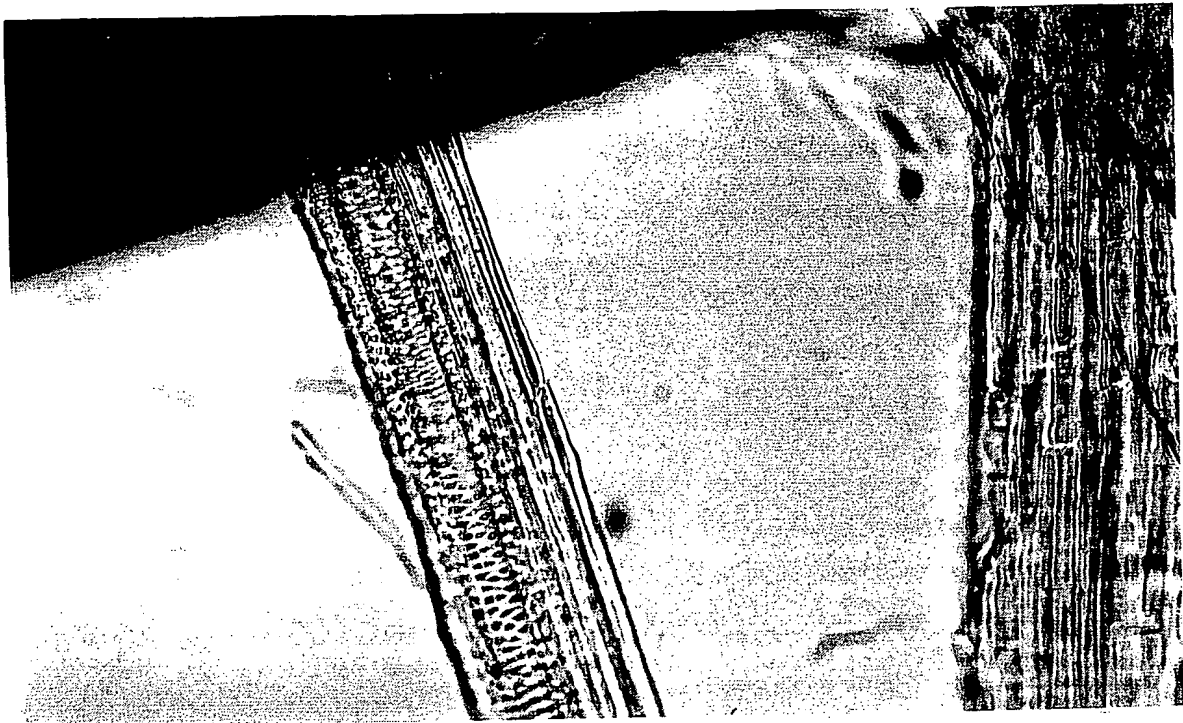


Fig. 5

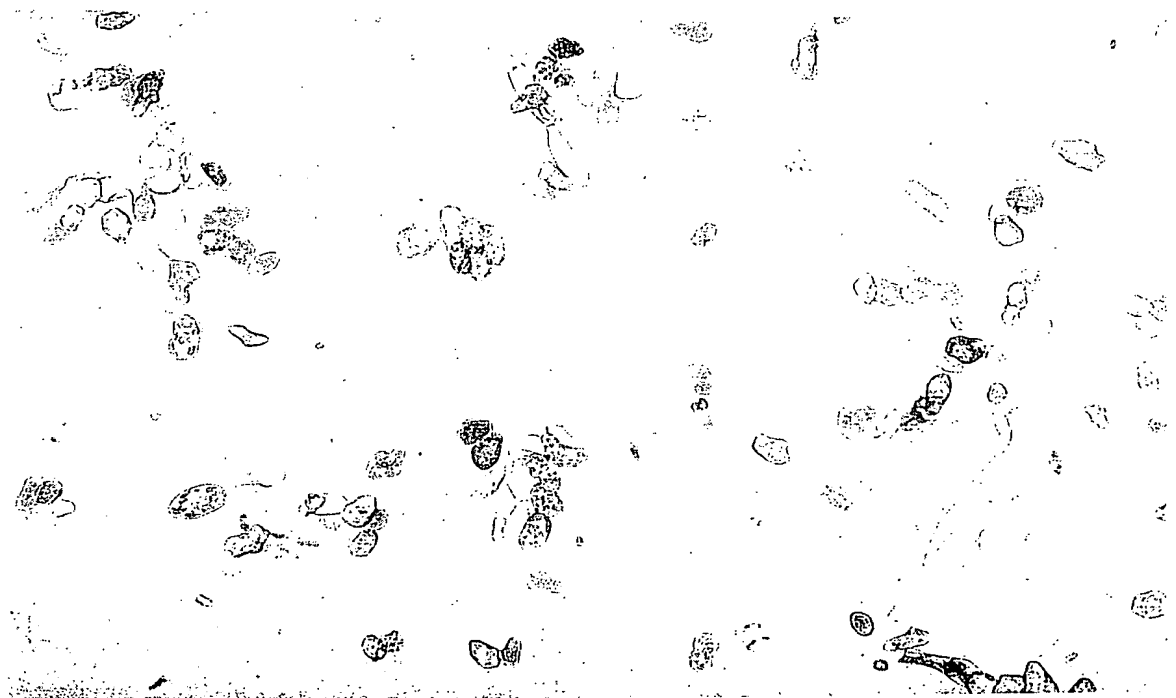


Fig. 6

20.03.00

4/7

PCT 99/00804



Fig. 7

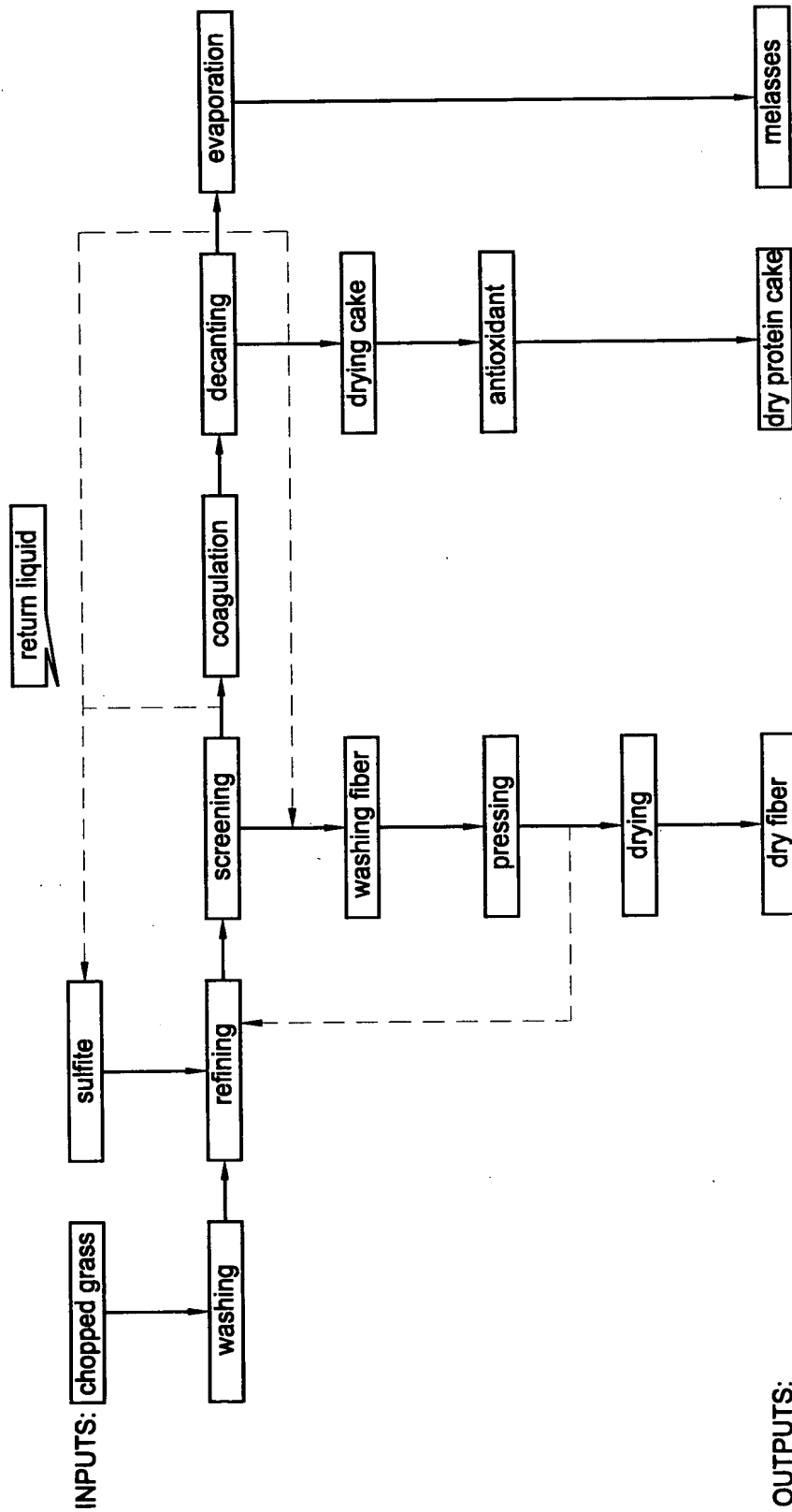


Fig. 8

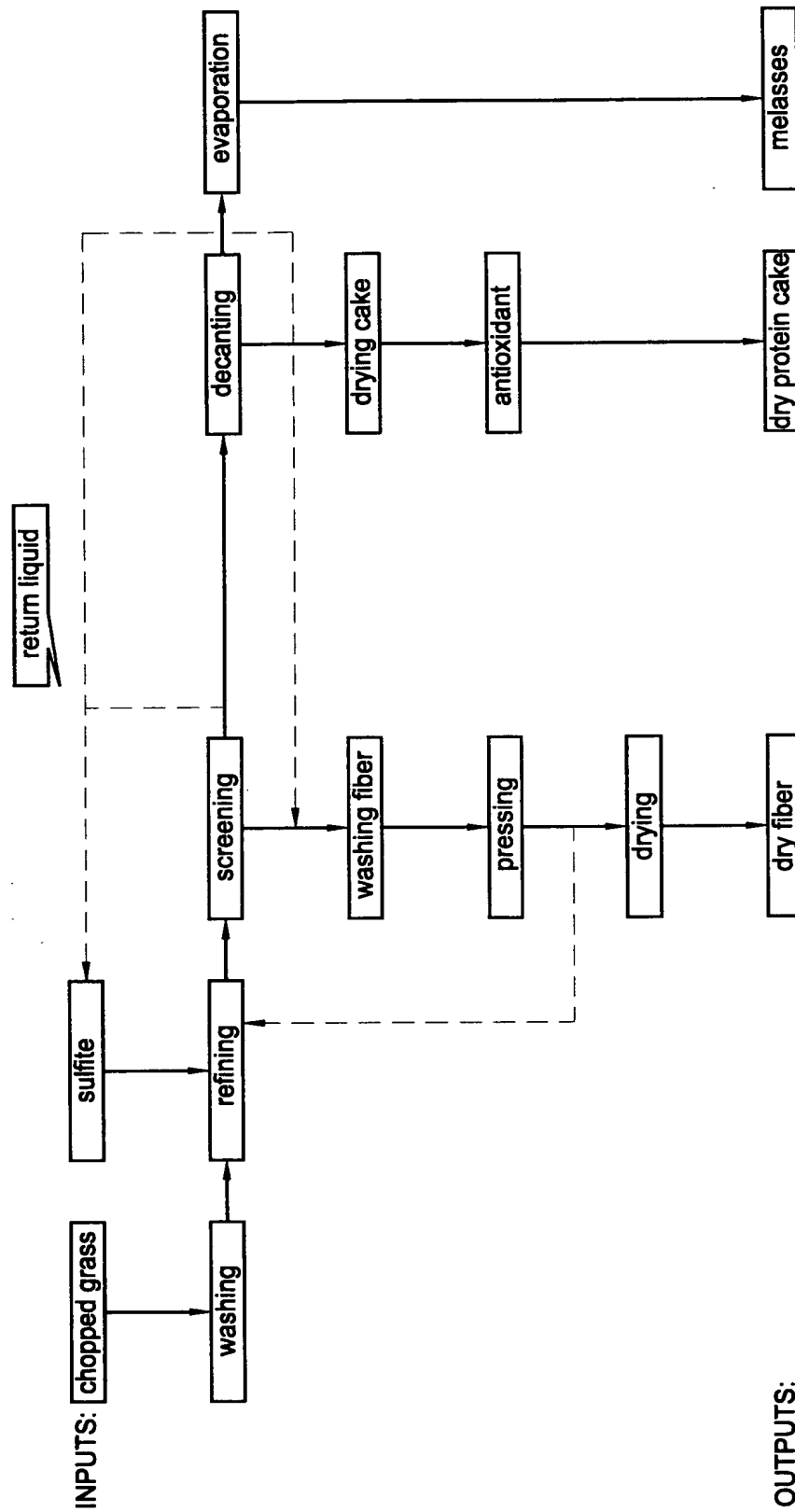


Fig. 9

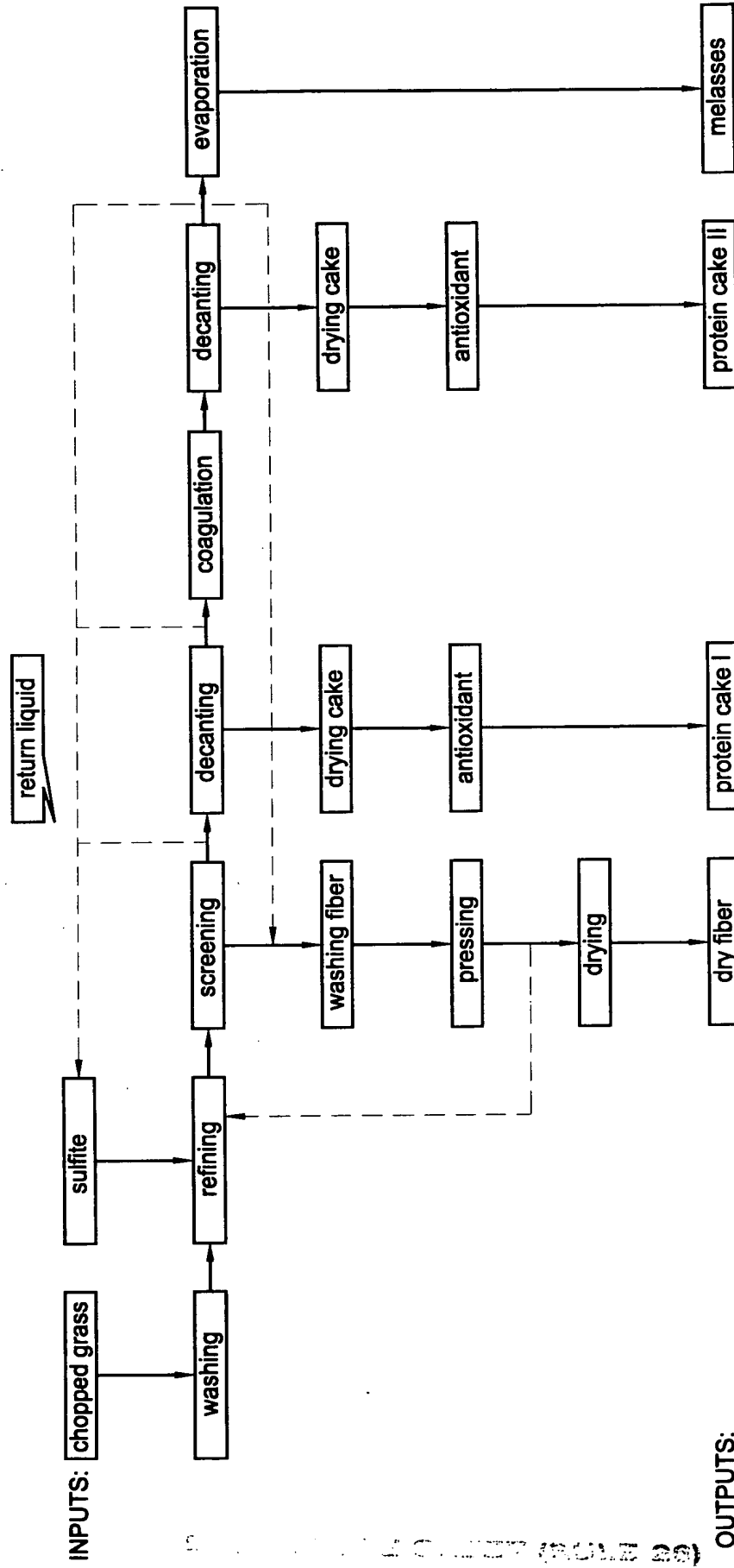


Fig. 10

P10000PC00

Titel: Ontsluiting van blad en/of stengeldelen van planten.

De uitvinding heeft betrekking op het scheiden en winnen van componenten uit plantaardige grondstoffen.

Planten zijn, zoals de meeste organismen, opgebouwd uit cellen. Een plantencel bestaat uit een lipiden  
5 membraan met een in het algemeen waterige inhoud, het cytosol, waarin de diverse celorganellen (eveneens omgeven door lipide membranen), zoals kern, mitochondriën, endoplasmatisch reticulum en chloroplasten, en het cytoskelet, opgebouwd uit  
10 microfilamenten en microtubuli, dat de cel een innerlijke structuur geeft. Tevens zijn in de plantencel vacuolen aanwezig die een belangrijke rol spelen bij het op spanning houden van een plantencel, de vacuolen handhaven de turgor van de cel.

15 De samenstellende componenten van een plantencel zijn ruwweg te onderscheiden in water, wat ruimschoots het grootste deel uitmaakt van een levende cel, componenten zoals zouten, (precursors van) lipiden, koolhydraten, aminozuren en nucleotiden, macromoleculen  
20 zoals zetmelen, eiwitten en nucleïnezuur en een veelvoud aan andere moleculen, waaronder vitamines en kleurstoffen zoals chlorofyl, caroteen en xanthofyl.

Een plantencel is in het algemeen omgeven door een celwand welke stevigheid en structuur geeft aan het  
25 plantenweefsel. De celwand is voornamelijk opgebouwd uit (hemi)cellulose en andere koolhydraat-polymeren, welke zijn geaggregeerd tot vezels. Houtige planten bevatten ook in ruime mate lignine, een polymeer samengesteld uit phenolen en andere aromatische monomeren.

30 Plantenweefsel is samengesteld uit plantencellen welke alle, wanneer levend, in principe aan de

bovenstaande omschrijving voldoen. Een belangrijk onderscheid kan worden gemaakt tussen relatief stevige weefsels welke vrijwel geen, en de relatief zachte weefsels welke in het algemeen wel chloroplast of andere plastiden bevattende cellen omvatten. Weefsels welke in het algemeen geen chloroplast houdende cellen omvatten zijn bijvoorbeeld de epidermis of huidweefsel van een plant, het kollenchym en sclerenchym of steunweefsel van een plant en de vaatvezelbundels of het vaatbundelweefsel, omvattende de belangrijke transportvaten (houtvaten en zeefvaten) in de plant. Wanneer een deel van een plant sterk verhout is sterft in het algemeen op den duur het merendeel van de cellen in het verhoutte deel af en blijven slechts restanten van de cel inhoud over. Met name de cytosol en de daarin aanwezige organellen gaan verloren maar de vaatvezelbundels, huid en steunweefsels geven in het algemeen vorm en structuur aan de plant en blijven in het algemeen aanwezig als de plant dood is. Kenmerkend is dat deze relatief stevige weefsels (met name vaatbundels, sclerenchym en epidermis) geen tot vrijwel geen chloroplast houdende cellen omvatten, terwijl een belangrijk deel (tenminste in de bovengrondse blad en stengeldelen van de plant) van de relatief zachte weefsels, ook wel chlorenchym genoemd, uit voornamelijk alleen chloroplasthoudende parenchymale cellen is opgebouwd; hier vindt dan ook de fotosynthese plaats.

Het is sinds lang bekend diverse componenten uit plantaardige grondstoffen te winnen voor verder gebruik in bijvoorbeeld voedsel voor menselijke of dierlijke consumptie middels mechanische methoden. Vaak worden planten slechts verkleind of verhakseld om ze geschikt te maken voor consumptie, een voorbeeld is het hakselen van mais voor veevoer.

Echter, met name de in de plantencel in het cytosol aanwezige componenten zijn bij uitstek geschikt voor

menselijke of dierlijke voeding aangezien deze bouwstoffen kunnen zijn voor overeenkomende componenten welke in dierlijke cellen aangetroffen worden.

Mechanische verwerking wordt bijvoorbeeld toegepast op voedergewassen, zoals gras, lucerne en andere vers en groen geoogste planten welke vaak als vrijwel gehele plant, met name de blad- en/of stengeldelen en meestal behoudens de wortels, worden gebruikt voor het winnen van bijvoorbeeld (dier)voedselcomponenten. Dergelijke plantaardige grondstoffen worden in het algemeen middels persen van (bijvoorkeur gehakseld of anderszins verkleind) blad en/of stengel materiaal gewonnen, waarbij een deel van het plantaardig materiaal als perssap verkregen wordt terwijl het overblijvende en geperste materiaal als perskoek bekend staat.

De door het persen uitgeoefende drukkrachten resulteren in het algemeen in het ontsluiten (knappen of barsten) van plantencellen in het materiaal, waardoor de waterige maar voedselcomponentrijke cytosol, eventueel met resten van de organellen en het de cel omgevende lipiden membraan, als perssap uit de cel vrijkomt. Perssap wordt in het algemeen verder behandeld, bijvoorbeeld middels zeven, waarna bijvoorbeeld het eiwit in het sap gewonnen wordt middels coagulatie door bijvoorbeeld zuur- en/of hitte-behandeling. Ook kan perssap verder worden bewerkt middels (ultra- of membraan)filtratie, drogen, fermentatie of andere aan de vakman bekende methoden. Eiwitrijke of anderszins hoogwaardige voedingsstoffen voor menselijke en dierlijke consumptie, maar ook kleurstoffen zoals caroteen (pro-vitamine A), kunnen op deze manier uit cytosol worden gewonnen.

De resulterende, relatief droge perskoek wordt in het algemeen als minder voedselrijk beschouwd, deze bevat relatief intacte vezelbundels samengesteld uit (niet direkt) verteerbare cellulose vezels, aanhangend perssap



en resterende plantencellen welke niet onder invloed van het persen zijn ontsloten. Vooral deze resterende plantencellen met niet gewonnen cytosol geven nog voederwaarde aan de perskoek, die in het algemeen wordt gedroogd en, al dan niet gepelleteerd, gebruikt als relatief laagwaardige ruwvoer component in diervoeders, met name voor herkauwers.

Voor het mechanisch ontsluiten van bijvoorbeeld luzerne of grassen wordt traditioneel een werkwijze toegepast gebaseerd op het desintegreren van de plantaardige grondstof met behulp van hamermolens gevolgd door het uitpersen van de gedesintegreerde grondstof (hier aangeduid als pulp) met behulp van schroefpersen of bandpersen. Hierbij wordt de pulp gescheiden in een fractie perskoek en een fractie perssap. De sapfractie wordt beschouwd als de fractie waarin zich de industrieel winbare inhoudstoffen uit het plantenmateriaal bevinden. Hamermolens bestaan in de regel uit een rotor waaraan zich vaste of vrij beweeglijke elementen bevinden die bij het ronddraaien van de rotor in contact worden gebracht met de plantaardige grondstof en deze middels slagkracht desintegreren. Het desintegrerende effect van hamermolens is relatief groot wanneer het plantaardige materiaal een goede turgor bezit, d.w.z. wanneer de plantencellen onder druk staan. In dat geval zorgt de slagkracht ervoor dat het weefsel kapot springt en de celinhoudbestanddelen met het weefselvocht vrijgemaakt worden. Is de turgor gering dan zal het plantenmateriaal door er op te slaan ingedrukt worden. Het weefsel blijft daarbij min of meer intact en het resultaat is dat de celinhoud in veel mindere mate beschikbaar komt. Dit heeft grote gevolgen voor de winbaarheid van met name die celinhoudbestanddelen die slechts ten dele in opgeloste vorm in de plantaardige biomassa aanwezig zijn en voor een ander deel in de vorm van vaste, onopgeloste stof. Dit geldt o.a. voor plantaardige eiwitten, maar ook voor

lipiden en pigmenten. Ook zijn hamermolens bekend (bijvoorbeeld uit US 5.464.160) waar relatief droog materiaal in twee fracties gescheiden wordt, dit met veronachtzaming van de zo waardevolle sapstroom met eiwitrijk cytosol. Deze typen molens zijn dan ook niet geschikt voor het verwerken van vers, relatief nat materiaal en produceren uiteindelijk een relatief natte vezelfractie.

Bij de boven beschreven persmethodes van plantaardig materiaal welke tenminste blad- en/of stengeldelen bevat is het in het algemeen van belang dat het materiaal zo vers mogelijk, kort na de oogst, wordt bewerkt. Alleen dan staan de plantencellen voldoende onder spanning om onder druk te kunnen barsten of knappen zodat de cytosol vrijkomt. Plantendelen welke op het moment van persen al enige tijd geleden zijn geoogst zijn al enigszins uitgedroogd, de aanwezige plantencellen hebben een groot deel van de noodzakelijke turgor verloren en zijn te slap om nog onder druk te kunnen barsten of knappen. In niet vers materiaal zal de winning van perssap dus met minder rendement verlopen. Hetzelfde geldt voor materiaal afkomstig van planten die al voordat zij werden geoogst een groot deel van de turgor in hun planten cellen hebben verloren door uitdroging en/of rijping. In het algemeen zijn dergelijke planten niet meer (volledig) groen maar krijgen zij bruine of gele aspecten. Verhoute plantendelen komen in het geheel niet in aanmerking voor bovenstaande methoden aangezien hierin de meeste cellen afgestorven zijn, of in ieder geval een slechts zeer geringe cytosol fractie bevatten en dus geen bijdrage leveren aan de winning van hoogwaardig voedsel.

In het algemeen wordt plantenmateriaal gescheiden in een perskoek- en een perssap-fractie. Kenmerk van deze werkwijze is de slechts gedeeltelijke onttrekking (met het perssap) van de celinhoudbestanddelen (vacuole-inhoud en cytoplasma met daarin aanwezige celorganellen zoals

chloroplasten en celkernen); de celwanden blijven nagenoeg volledig achter in de perskoek tezamen met het overige deel van de celinhoud. In de perskoek bevinden zich alle weefsels die ook in de grondstof zitten, 5 daarnaast ook een deel van de celinhoud. De kleur van de verse perskoek is overwegend groen doordat de chloroplasten met daarin het aanwezige chlorofyl (bladgroen) met het perssap slechts ten dele verwijderd zijn. Het plantenmateriaal is slechts ten dele tot op 10 weefsel niveau gedesintegreerd; dat betekent dat nog herkenbare fragmenten van bladeren en stengels aanwezig zijn naast individuele weefsels zoals geïsoleerde vaatbundels.

Het perssap bestaat in hoofdzaak uit de waterige 15 inhoud van cellen: de vacuole-inhoud en het cytoplasma met daarin celorganellen zoals chloroplasten in intacte of gedesintegreerde vorm; celwandbestanddelen zijn nagenoeg afwezig doordat ze in de perskoek achterblijven.

De winbaarheid van eiwit en andere gedeeltelijk 20 oplosbare stoffen is daardoor bij de traditionele werkwijze van fractioneren erg gevoelig voor variaties in de aard van de plantaardige biomassa, m.n. de aanwezigheid van turgor die zich in de regel vertaalt in verschillen in drogestofgehalte.

De traditionele werkwijze van fractioneren heeft tot 25 gevolg dat bij uitpersen van de pulp slechts een deel van de celinhoudbestanddelen in de sapstroom terechtkomt en een ander deel achterblijft in de perskoek. De perskoek bevat dus nog, naast het merendeel van de celwanden, ook 30 nog een deel van de celinhoudbestanddelen en wordt daardoor gebruikt als veevoeder.

De bestaande persmethodes om uit plantaardig materiaal hoogwaardige van laagwaardige componenten te scheiden zijn dus relatief sterk afhankelijk van de 35 turgor van de in het plantaardig materiaal aanwezige cellen wat het toepassen van deze methodes beperkt tot

het toepassen op relatief vers en groen materiaal. De resulterende perskoek bevat, ook met gebruik van vers en/of groen materiaal, vaak nog grote hoeveelheden onontsloten plantencellen met daarin hoogwaardige cytosol  
5 terwijl slechts een geringe prijs voor perskoek verkregen zal kunnen worden daar deze eigenlijk alleen geschikt is als relatief laagwaardige component van diervoeder. Voor het winnen van hoogwaardige componenten blad- en/of stengeldelen, is behoefte aan betere methoden die met een  
10 hoger rendement dan de bestaande methoden de plantencel kunnen ontsluiten, de cytosolfractie meer beschikbaar kan maken voor winning en betere afzetmogelijkheden biedt voor het vezelhoudend restmateriaal. De uitvinding beoogt in deze behoefte te voorzien.

15

De uitvinding voorziet in een werkwijze voor het scheiden van componenten uit plantaardig materiaal, zoals blad en/of stengeldelen met het kenmerk dat het materiaal op zijn minst ten dele vervezeld wordt en vervolgens  
20 zodanig wordt gescheiden in een vezelfractie en een sapstroom dat de vezelfractie voornamelijk relatief stevige weefsels zoals epidermis, sclerenchym en vaatbundels omvat en de sapstroom voornamelijk zachte weefsels zoals parenchym, en cytosol bevat. In een  
25 voorkeursuitvoering voorziet de uitvinding in een methode tot scheiding van een sapstroom die met name parenchym met chloroplasten omvat.

De uitvinding voorziet in een nieuwe werkwijze van fractioneren die bestaat uit tenminste twee stappen: een  
30 eerste stap waarin het plantaardige materiaal door middel van de inwerking van afschuifkrachten vervezeld wordt en een tweede stap waarin de vezelfractie afgescheiden wordt van de rest. Fractioneren van plantaardige biomassa betekent het scheiden in een aantal fracties. Door  
35 biomassa te fractioneren ontstaan nieuwe productstromen met andere toepassingsmogelijkheden dan de grondstof

zelf. Deze nieuwe productstromen vertegenwoordigen daardoor vaak tezamen meer waarde dan de oorspronkelijke biomassa. De uitvinding voorziet in een nieuwe techniek die is gebaseerd op het vervezelen en vervolgens

5 ontvezelen van plantaardige biomassa.

In een voorkeursuitvoering voorziet de uitvinding in een werkwijze tot scheiding van componenten uit plantaardig materiaal met het kenmerk dat het materiaal op zijn minst ten dele mechanisch vervezeld wordt en

10 vervolgens wordt gescheiden in een vezelfractie en een sapstroom, waarbij de vezelfractie (zie bijvoorbeeld figuur 1 en 2, ook voor een vergelijking met een traditionele methode) voornamelijk relatief stevige weefsels zoals epidermis, sclerenchym en vaatbundels

15 omvat en de sapstroom (zie bijvoorbeeld figuur 6 en 7, ook voor een vergelijking met een traditionele methode) voornamelijk zachte weefsels zoals parenchym, en cytosol bevat. De mechanische vervezeling wordt bijvoorbeeld bewerkstelligd middels behandeling van het materiaal in

20 een blender. Bij voorkeur, zeker wanneer toepassing op industriële schaal is gewenst, geschiedt de vervezeling volgens de uitvinding middels een inrichting zoals een (druk)refiner, met maalschijven, zoals toegepast in de pulp- en papierindustrie, of in een inrichting met

25 gelijkwaardige werking waardoor het plantaardig materiaal kan worden vervezeld zodat het kan worden gescheiden in een vezelfractie welke voornamelijk relatief stevige weefsels zoals epidermis, sclerenchym en vaatbundels omvat en de sapstroom voornamelijk zachte weefsels zoals

30 parenchym, en cytosol omvat.

De werkwijze volgens de uitvinding is toepasbaar op alle vezelhoudende plantaardige materialen, zowel afkomstig van geteelde planten (cultuurgewassen) als van wilde planten, als op kruisingsproducten van geteelde

35 planten onderling of met wilde planten. Voorbeelden zijn: plantaardige biomassa afkomstig van cultuurgrasland, maar

ook uit natuurgebieden en wegbermen, voedergewassen zoals  
voedergrassen en maïs, luzerne, klaver, en andere  
vlinderbloemigen, vezelgewassen zoals vlas en hennep, en  
het loof van gewassen welke normaliter alleen voor hun  
5 zaden, vruchten of knollen geteeld worden zoals granen,  
bieten, erwten, bonen, aardappels, wortelen, cassave,  
bataat.

Bij het vervezelen wordt het vaatbundelweefsel met  
het sclerenchym en de epidermis (tezamen de vezelfractie)  
10 mechanisch losgemaakt van het overige in hoofdzaak  
parenchymatische weefsel. Dit parenchymatische weefsel  
wordt tegelijkertijd ontsloten en de  
celinhoudbestanddelen hieruit komen hierbij nagenoeg  
volledig beschikbaar. Het vervezelen kan gebeuren met  
15 behulp van refiners zoals deze in de pulp- en  
papierindustrie in gebruik zijn voor het vervezelen van  
hout en houtpulp. Refinen c.q. vervezelen gebeurt in de  
regel onder toevoeging van vocht aan het  
plantenmateriaal. Het resultaat is dan een slurrie van  
20 vervezeld materiaal waaruit de vezels verwijderd kunnen  
worden. De vezelfractie (vezelstroom) die aldus gewonnen  
wordt, is door zijn aard en samenstelling onder andere  
geschikt voor de volgende toepassingen: als grondstof  
voor papier en karton (massiefkarton, vouwkarton en  
25 vormkarton), als grondstof voor de productie van  
vezelplaatmaterialen (zachtboard, hardboard, spaanplaat,  
MDF, HDF en MDF/HDF vormdelen) en composieten, als  
grondstof voor vochtabsorberende materialen, als luiers,  
maandverband etc., als grondstof voor de bereiding van  
30 groei media (potgrond en substraten), mulchen (als  
bescherming tegen erosie, en als onkruid- en  
ziekteonderdrukker), als bodemverbeteraar of als  
brandstof.

Bij het ontvezelen wordt de vrijgemaakte vezel  
35 bijvoorbeeld middels zeven afgescheiden van de overige  
plantenbestanddelen. Door wassen en zeven kan de vezel

verder gezuiverd worden en kunnen zoveel mogelijk niet-  
vezelbestanddelen met het waswater alsnog gewonnen  
worden. De ontvezelde slurrie bestaat dan uit een mengsel  
van toegevoegd water, weefselvocht, celinhoudbestanddelen  
5 en fijn gedispergeerde celwanden afkomstig uit het  
parenchymatisch weefsel. Uit de ontvezelde slurrie of  
sapstroom kunnen inhoudstoffen worden gewonnen in min of  
meer zuivere vorm zoals: eiwitten, peptiden en  
aminozuren, enzymen, pigmenten, lipiden, vetzuren,  
10 zetmelen, oplosbare suikers en (celwand)koolhydraten voor  
toepassing in de veevoeding, humane voeding, of als  
substraat voor fermentaties, of kunnen door concentratie  
(vee)voedingsproducten gemaakt worden met een hoge  
voedingswaarde als gevolg van de verwijdering van de  
15 niet- of slecht verteerbare vezelfractie. De ontvezelde  
slurrie kan in vervolgstappen verder gefractioneerd  
worden. Een mogelijkheid is bijvoorbeeld het afscheiden  
van alle vaste delen door middel van centrifugeren, al  
dan niet voorafgegaan door een coagulatiestap middels  
20 verhitte, aanzuring of op andere wijze. Een andere  
mogelijkheid is de parenchymatische celwanden in  
oplosbare suikers om te zetten met behulp van  
celwandsplitsende enzymen (pectinases, cellulases etc.)  
en aldus toe te voegen aan de fractie opgeloste stof in  
25 de ontvezelde slurrie.

Kenmerk van de werkwijze zoals voorzien door de  
uitvinding is de splitsing op weefselniveau in een  
vezelfractie die de relatief stevige weefsels bevat  
(vaatbundels, sclerenchym en epidermis) en een ontvezelde  
30 fractie die de relatief zachte weefsels (parenchym) met  
hun inhoud bevat. Kort samengevat is het verschil tussen  
de traditionele en nieuwe werkwijze de onttrekking van  
weefselvocht (traditioneel) versus weefselfractionering  
(nieuwe werkwijze).

35 De uitvinding voorziet ook in een inrichting voor  
het toepassen van een werkwijze volgens de uitvinding.

Een dergelijke inrichting is gekenmerkt door middelen geschikt voor het vervezelen volgens de uitvinding waarbij het relatief stevige vaatbundelweefsel met bijvoorbeeld het sclerenchym en de epidermis (tezamen de  
5 vezelfractie) mechanisch wordt losgemaakt van het overige in hoofdzaak parenchymatische weefsel. Dit parenchymatische weefsel wordt tegelijkertijd ontsloten en de celinhoudbestanddelen hieruit komen hierbij nagenoeg volledig beschikbaar. Met vervezeling wordt hier  
10 bedoeld dat het plantenmateriaal wordt blootgesteld aan dusdanige krachten dat de relatief stevige weefsels vrijwel geheel losgemaakt worden van de relatief zachte weefsels. Als resultante van de krachten welke deze vervezeling bewerkstelligen zal het overgrote deel van  
15 de, zo niet vrijwel alle, plantencellen, worden ontsloten waardoor het cytosol vrijkomt. Deze cytosol laat zich als sapstroom, met daarin in het algemeen ook resten van de organellen en de cel omgevende lipiden membraan en parenchymatische celwanden, relatief eenvoudig middels  
20 zeven, of andere aan de vakman bekende scheidingsmiddelen van de vezelcomponent scheiden.

Een eerste voordeel van de uitvinding is hierin gelegen dat het rendement van de werkwijze niet afhankelijk is van de turgor van de in het materiaal  
25 aanwezige plantencellen, waardoor deze met groter rendement dan gebruikelijk in de bovenomschreven persmethoden ontsloten kunnen worden.

Een tweede voordeel van de uitvinding is hierin gelegen dat de uitvinding voorziet in twee productstromen  
30 welke op zich erg zuiver zijn. Een eerste, de vezelfractie bevat voornamelijk cellulose en hemicellulose, voornamelijk bestaande uit de elementen C, H en O (wat op zich voordelen oplevert voor een schone verbranding), een tweede bevat alle waardevolle en  
35 gecompliceerde inhoudsstoffen die in het parenchym en



cytosol te vinden zijn, en welke relatief eenvoudig verder kunnen worden gescheiden.

De twee productstromen zijn door bijvoorbeeld zeven van elkaar te scheiden. Andere scheidingsmethoden dan  
5 zeven zijn ook denkbaar, b.v. centrifugeren, verwerken middels (hydro)cycloon en centrizeven, en decanteren of sedimenteren, of combinaties van deze methoden. Bij het ontvezelen wordt de vrijgemaakte vezel middels  
10 bijvoorbeeld zeven afgescheiden van de overige plantenbestanddelen. Door wassen en zeven kan de vezel verder gezuiverd worden en kunnen zoveel mogelijk niet-vezelbestanddelen met het waswater als nog gewonnen worden. De ontvezelde slurrie bestaat dan uit een mengsel van toegevoegd water, weefselvocht, celinhoudbestanddelen  
15 en fijn gedispergeerde celwanden afkomstig uit het parenchymatisch weefsel.

Een eerste productstroom zoals voorzien door de uitvinding is een (in het algemeen nutritioneel hoogwaardige) sapstroom bestaande uit een waterige  
20 oplossing/suspensie van nagenoeg alle hoogwaardige componenten of voedingsstoffen uit het plantaardig materiaal (zoals suikers, fructose-oligosacchariden, eiwitten, lipiden, pigmenten, en dergelijke). Door verwijdering van de (in nutritionele zin laagwaardige)  
25 vezelcomponenten ontstaat (op basis van droge stof) deze relatief hoogwaardige productstroom, waaruit de diverse componenten relatief eenvoudig verder kunnen worden geïsoleerd. Het ontvezelde product of de sapstroom bestaat in hoofdzaak uit parenchym, deels als intacte  
30 cellen deels als gedesintegreerd celmateriaal. De kleur van het ontvezelde product is in de regel groen door de aanwezigheid van intacte of kapotte chloroplasten, soms bruingroen door bruinverkleuring tijdens het fractioneren. Macroscopisch gezien is het een vloeistof.  
35 Microscopisch zijn in deze vloeistof voornamelijk intacte

en gedesintegreerde parenchymcellen zichtbaar en celorganellen zoals chloroplasten.

De tweede productstroom, de vezelfractie zoals voorzien door de uitvinding bestaat uit de relatief harde weefsels. Dit zijn in de regel de vaatbundels, het sclerenchym en de epidermis. De celinhoud is in deze weefsels afwezig of wordt tijdens het fractioneren en wassen nagenoeg geheel verwijderd. Vezel bestaat daardoor overwegend uit celwandcomponenten. Chloroplasten zijn in een zuiver vezelpreparaat nagenoeg afwezig. De kleur van de gewassen vezel varieert in de regel van wit tot geel of lichtbruin. Soms kan een lichtgroene kleur ontstaan door impregnatie met chlorofyl tijdens de winning. Macroscopisch gezien heeft de vezelfractie een vezelstructuur voornamelijk door het draadvormige karakter van de vaatbundels. Microscopisch gezien zijn naast de draadvormige structuren van vaatbundels en sclerenchym in de regel ook stukken epidermis weefsel herkenbaar bestaande uit vellen van één cel laag dik. De vaatbundels zijn opgebouwd uit meerdere cellen waaronder houtvaten en zeefvaten. Afhankelijk van de mate van vervezeling komen ook vezels bestaande uit één cel voor en voorts de restanten van celwanden en (spiraal-, net- of ringvormige) celwandverdikkingen. Typerend voor de epidermis-vellen is de aanwezigheid van huidmondjes en kiezelzuurtandjes of haren.

De vezelstroom zoals voorzien door de uitvinding bestaat nagenoeg uitsluitend uit een natte vaste vezelstroom (hoofdzakelijk cellulose en hemi-cellulose) met in principe geen nutritionele waarde aangezien deze fractie niet direct, en slechts gering microbiologisch verteerbaar is. Echter, het ontbreken van verteerbaarheid maakt het gebruik van de vezelsstroom voor niet-voedsel toepassingen mogelijk, dit in tegenstelling tot bijvoorbeeld de perskoek afkomstig uit bovenomschreven traditionele persmethoden waar de perskoek eigenlijk

alleen geschikt is voor voedertoepassingen en spoedig zou verrotten als deze niet tot voedsel werd bereid en gegeten werd of verder werd geconserveerd.

Bijvoorbeeld, de uitvinding voorziet in het gebruik  
5 van een vezelfractie voor de productie van energie. De vezelfractie bevat voornamelijk de koolhydraten cellulose en hemicellulose (samengesteld uit voornamelijk de elementen C, H en O), welke uitstekend brandbaar zijn en dus met hoog rendement kunnen worden omgezet in bruikbare  
10 energie in bijvoorbeeld een warmte-kracht centrale en waarvan bij verbranding geen of slechts geringe uitstoot van schadelijke stoffen te verwachten valt. Het verwerken van plantenmateriaal volgens een werkwijze als voorzien door de uitvinding, gevolgd door het gebruiken van de  
15 resulterende vezelfractie als brandstof, zal bijdragen aan het verminderen van de CO<sub>2</sub>-uitstoot aangezien het hier een niet fossiele brandstof betreft. Tevens zal de verbranding van de vezelfractie op zich schoner zijn voor het milieu daar de vezelfractie niet of nauwelijks  
20 verontreinigd is met de normaal in droog planten materiaal voorkomende zoutresiduen (zoals K, Na, Cl, P verbindingen) en eiwitresten (met daarin ook S en N verbindingen). Deze zoutresiduen en eiwitresten, afkomstig uit het cytosol zijn met de sapstroom,  
25 gescheiden van de vezelfractie. Verbranding van de vezelfractie (met daarin voornamelijk C, H en O verbindingen welke door verbranding omgezet worden in H<sub>2</sub>O en CO<sub>2</sub>) zal dus een veel kleinere milieubelasting met zich meebrengen dan verbranding van ander plantenmateriaal  
30 waarin al deze zoutresiduen en eiwitresten nog aanwezig zijn. Eiwitverbranding draagt met name bij aan de uitstoot van zwavel en stikstof verbindingen zoals zwavel en stikstof oxiden, onbrandbare zoutresiduen zullen bijdragen aan het rest-as volume, bij de verbranding van  
35 een vezelfractie volgens de uitvinding zal de uitstoot

van bijvoorbeeld zwavel en stikstof oxiden, en het rest-as volume met daarin de zoutresten veel kleiner zijn.

Aangezien het vezelmateriaal van organische herkomst is is het bijvoorbeeld ook als turfvervanger in  
5 bijvoorbeeld potgrond of in tuinbouwteeltsubstraten toepasbaar.

In een voorkeursuitvoering van de uitvinding wordt het plantenmateriaal dermate sterk vervezeld, totdat bijvoorbeeld het vezelmateriaal voornamelijk uit  
10 elementair vezels bestaat, zodat de zo ontstane vezelcomponent of vezelstroom bijvoorbeeld geschikt is voor verdere verwerking tot karton- en/of papier, of kan worden gebruikt als (natuurlijke) vezel in composieten tezamen met en ter versterking van (kunst)harsen.

15 Voorbeelden van plantaardig materiaal dat behandeld kan worden met een werkwijze volgens de uitvinding zijn bekende (voeder)gewassen zoals grassen (granen zoals tarwe, rogge en mais inbegrepen), luzerne, hennep, maar ook oogstresiduen van gewassen waar van normalerwijze de  
20 blad-en/of stengel delen niet worden verwerkt, zoals aardappel of (suiker)bietenloof wat in het algemeen bij de oogst op het land achterblijft; of gewassen die in het algemeen niet, of slechts op kleine schaal tot sap worden verwerkt, zoals spinazie, sla en gras. Het hoge rendement  
25 van een werkwijze volgens de uitvinding maakt de bewerking van dergelijke plantaardige materialen rendabel.

De sapstroom van plantenmaterialen bewerkt volgens een werkwijze voorzien door de uitvinding wordt verder  
30 behandeld, bijvoorbeeld middels zeven, waarna bijvoorbeeld het eiwit, peptiden, aminozuren, en andere componenten of inhoudsstoffen in het sap gewonnen wordt middels bijvoorbeeld coagulatie door bijvoorbeeld zuur- en/of hitte-behandeling. Ook kan de sapstroom verder  
35 worden bewerkt middels (ultra- of membraan)filtratie, drogen, fermentatie of andere aan de vakman bekende

methoden. Eiwitrijke of anderszins hoogwaardige voedingsstoffen voor menselijke en dierlijke consumptie, maar ook kleurstoffen zoals caroteen (pro-vitamine A), kunnen op deze manier uit cytosol, ook uit dat van blad-  
5 en/of stengeldelen worden gewonnen.

Ook plantaardige materiaal dat in de strikte zin des woords niet tot cultuurgewassen behoort, zoals bermgras gemaaid langs (snel)wegen of mengsels van grassen en andere wilde planten gemaaid in natuurgebieden komen in  
10 aanmerking voor verwerking in een werkwijze volgens de uitvinding.

De uitvinding voorziet tevens in een werkwijze tot scheiding van componenten uit plantaardig materiaal waarbij het betreffende materiaal relatief lang geleden  
15 is geoogst en al, tenminste al ten dele, is uitgedroogd, of waarbij het plantaardig materiaal niet meer als vers en groen is te omschrijven, maar bijvoorbeeld door rijping een meer houtig en/of droog karakter heeft verkregen. Dergelijke materiaal is voor het verwerken in  
20 een persmethode niet geschikt, maar is nu uitstekend verwerkbaar, aangezien de mate van turgor van de te ontsluiten plantencel bij toepassen van een werkwijze volgens de uitvinding niet belangrijk is.

De uitvinding voorziet in een refiner, of een  
25 inrichting met vergelijkbare werking, en het gebruik van een dergelijke inrichting, bijvoorbeeld voor het scheiden van componenten uit plantaardig materiaal dat (nog) geen of slechts een geringe verhouting vertoont en waarin parenchym aanwezig is. Dit parenchym met de daarin  
30 aanwezige cytosol is de basis van de sapstroom zoals voorzien door de uitvinding. Een refiner wordt in het algemeen gebruikt om hout snippers af te breken tot vezels met het doel pulp te maken voor de productie van papier en/of karton. De uitvinding voorziet in het  
35 verwerken middels een refiner van een gewas gekozen uit een grote verscheidenheid aan gewassen die traditioneel

niet met een refiner verwerkt zijn. Refiners worden in het algemeen niet voor vers en/of groen materiaal gebruikt, aangezien hout voornamelijk uit dood of verhout weefsel bestaat waar het meeste parenchym, met

5 chloroplasten, uit verdwenen is. Verschillende typen refiners zijn bekend aan de vakman, er zijn bijvoorbeeld refiners met conische schijven of met platte schijven. De uitvinding voorziet in het gebruik van beide typen, en/of gelijkwaardige inrichtingen, bijvoorbeeld van een

10 convex/concaaf type samengestelde maalschijven, in een methode voorzien door de uitvinding.

De uitvinding wordt verder toegelicht in het experimentele gedeelte van de beschrijving, zonder deze te beperken.

15

#### Experimentele gedeelte

In onderzoek is de vinding vergeleken met de traditionele techniek. Dit is gebeurd met behulp van een

20 lab(oratorium)-protocol en met behulp van industriële apparatuur. Op basis hiervan kan de aard van de vezelfractie beoordeeld worden en kan de winbaarheid van inhoudsstoffen bij beide methodes vergeleken worden. Resultaten die hieronder getoond worden, illustreren het

25 verschil in de winbaarheid van eiwit en andere inhoudsstoffen.

#### Traditionele werkwijze

In de experimenten op laboratorium schaal werd de

30 traditionele werkwijze van malen en persen gesimuleerd door materiaal te verpulpen in een Tecator Homogenizer en de pulp uit te persen met behulp van een aangepaste trek-drukbank van Lloyd Instruments. Deze was voorzien van een beker met geperforeerde bodemplaat (oppervlak 50 cm<sup>2</sup>)

35 waarin 100 g verse pulp geperst werd bij een druk oplopend tot 10 bar, gedurende 15 minuten. Het

oorspronkelijke materiaal en het uitgeperste sap werden geanalyseerd op stikstofgehalte en de winbaarheid van eiwit werd berekend als de hoeveelheid ruw-eiwit (hoeveelheid stikstof vermenigvuldigd met 6.25) in sap  
5 uitgedrukt als percentage van de hoeveelheid ruw-eiwit in het oorspronkelijke materiaal.

Op grotere schaal werd een hamermolen van het type Jenz AZ30 ingezet om gras te desintegreren en werd de aldus  
10 verkregen grasulp uitgeperst in een Vetter schroefpers met een compressievoud van 1:7.65 en een perforatie van de cilinderwand van 0.7 mm. Door plantenmateriaal één of meerdere malen de hamermolen te laten passeren kon het materiaal meer of minder ver gedesintegreerd worden.

15

#### Nieuwe werkwijze

In de experimenten op laboratorium schaal werd de nieuwe werkwijze gesimuleerd door vers gras fijn hakselen in een cutter, vervolgens 30 g fijn gehakselde gras stukjes met  
20 400 ml water mengen en gedurende 10 minuten te vervezelen in een blender (Braun mengbeker) de slurrie uit de blender te zeven op een 850 micron zeef, en de afgezeefde vezelfractie te wassen en te drogen. De vezel werd geanalyseerd op gehalten aan stikstof, as en celwanden en  
25 hiermee werd de samenstelling van de ontvezelde slurrie berekend. De vezelopbrengst werd bepaald als de hoeveelheid drogestof in de vezelfractie als percentage van de hoeveelheid drogestof in het uitgangsmateriaal. De winbaarheid van eiwit werd berekend als de hoeveelheid  
30 ruw-eiwit in de ontvezelde slurrie uitgedrukt als percentage van de hoeveelheid ruw-eiwit in het oorspronkelijke materiaal.

Ook werd de nieuwe werkwijze beproefd met een Sprout-  
35 Waldron 12 inch drukrefiner, met maalschijven van het type D2A505. Het refinieren of vervezelen van vers gras vond

plaats onder atmosferische omstandigheden bij een  
schijffafstand van 0.04 mm, onder toevoeging van water tot  
een consistentie van ca. 2% drogestof. De vezel werd  
vervolgens afgezeefd op een zeef met openingen van 140  
5 micron.

Ook werd de nieuwe methode uitgetest op semi-technische  
schaal met behulp van een Sunds Disk Refiner type RO 20  
FLUFF serie nr. 3838, bouwjaar 1985, voorzien van  
10 maalschijven met een hoge of lage weerstand tegen  
doorvoer. Met deze refiner werd o.a. het effect van  
schijftype en schijffafstand onderzocht op doorvoer en  
vezelsamenstelling.

15 Het refinieren vond plaats onder atmosferische  
omstandigheden met gehakseld gras, met of zonder  
toevoeging van water. Ook werd het vervezelen van  
aardappelloof getest.

20 Het gras was afkomstig van zowel cultuurgrasland als  
natuurterreinen en werd in verse, gehakselde vorm  
verwerkt. Monsters van het vervezelde materiaal werden  
met de hand gespoeld en afgezeefd en geanalyseerd op  
stikstof-en asgehalte. De winbaarheid van ruw-eiwit werd  
25 berekend op basis van een gemiddeld vezelaandeel van 33%  
van de gras-drogestof.

Het aardappelloof was afkomstig van  
zetmeelaardappelplanten tijdens de volle groeifase van de  
30 aardappelplant. Het loof werd machinaal getrokken en was  
daardoor in zeker mate gekneusd. Het aardappelloof  
bestond uit stengels en bladeren. Het aardappelloof werd,  
zonder wassing vooraf vers verwerkt met de refiner,  
zonder toevoeging van water. Het vervezelde materiaal  
35 werd met de hand uitgeperst.

Resultaten van onderzoek:



## Figuurbeschrijvingen

### Figuur 1 en figuur 2 (detail)

Perskoek van gras (links) en grasvezel (rechts) afkomstig  
5 uit Engels Raaigras (*Lolium perenne*).

In de perskoek valt de groene kleur op als gevolg van de  
aanwezigheid van chloroplasten. Tevens zijn  
bladfragmenten herkenbaar aan hun grootte (doorsnede  
groter dan 1 mm) en de kenmerkende ribbels op de  
10 bovenzijde van het blad. De grasvezel onderscheidt zich  
door de lichte kleur (vrijwel complete afwezigheid van  
chloroplasten), de draadvormige structuur en de geringe  
diameter van de individuele vezels ( in dit geval zeer  
veel kleiner dan 1 mm). De afstand tussen opeenvolgende  
15 cijfers is 1 cm.

### Figuur 3

Suspensie van grasvezel uit Engels Raaigras (*Lolium*  
20 *perenne*).

Zichtbaar zijn vezelvormige structuren (vaatbundels) met  
een diameter van enkele tientallen micrometer en  
epidermisvellen met een kleinste diameter tot enkele  
25 honderden micrometer.

### Figuur 4

Microscopische opname van epidermis in grasvezel  
afkomstig uit Engels Raaigras (*Lolium perenne*).

30 Kenmerkend is de aanwezigheid van huidmondjes bij Engels  
raaigras geconcentreerd in de epidermis van de bovenzijde  
van het blad. Het compactere weefsel terzijde van de  
huidmondjes is onderliggend sclerenchym. De langwerpige  
35 epidermiscellen hebben een dwarsdoorsnede van ca. 20  
micrometer.

## Figuur 5

Microscopische opname van vaatbundels in grasvezel afkomstig uit Engels Raaigras (*Lolium perenne*).

5

Kenmerkend voor vaatbundels zijn de opbouw uit meerdere cellen en de aanwezigheid van vaten met netvormige verdikkingen. De diameter van de vezel in het midden van de figuur bedraagt ca. 50 micrometer.

10

## Figuur 6

Microscopische opname van parenchymcellen in de sapstroom van ontvezeld gras afkomstig uit Engels Raaigras (*Lolium perenne*). Deze sapstroom behoort bij de vezelfractie van figuren 1 en 2.

15

Kenmerkend voor parenchymcellen in grasbladeren is de overvloedige aanwezigheid van chloroplasten. Sommige parenchymcellen zijn echter kapotgegaan tijdens het fractioneren: alleen de celwand is nog zichtbaar, de chloroplasten komen geïsoleerd voor in de omringende vloeistof. De grootte van deze parenchymcellen bedraagt ca. 20 \* 40 micrometer. De in deze figuur getoonde fractie is voor het fotograferen verdund om de relatief grote hoeveelheid parenchymcellen in de sapstroom volgens de uitvinding tot uiting te laten komen.

20

25

## Figuur 7

Microscopische opname van parenchymcellen in perssap van gras afkomstig uit Engels Raaigras (*Lolium perenne*).

30

Dit perssap behoort bij de perskoek van figuren 1 en 2. De in deze figuur getoonde fractie is voor het fotograferen geconcentreerd om de relatief kleine hoeveelheid parenchymcellen in het perssap tot uiting te laten komen.

35

Figuur 8

Processchema voor het vervezelen of refinieren van gras.

Figuur 9

5 Processchema voor het vervezelen of refinieren van gras.

Figuur 10

Processchema voor het vervezelen of refinieren van gras.

## Vervezeling

5 Tabel 1. Vezelsamenstelling en vezelopbrengst van  
geteelde grassen, per soort en ras gemiddeld gedurende  
het seizoen, en van enkele andere gewassen.

Soort/Ras	Stikstof- gehalte (g/kg ds**)	As- gehalte (g/kg ds)	Celwand- gehalte (g/kg ds)	Vezelopbrengst% van drogestof in grondstof
Grassen				
<i>Lolium perenne</i> 4n Vr.*	4.0	50.6	867	28
<i>Lolium perenne</i> 2nVr.	4.3	43.5	865	34
<i>Lolium perenne</i> 4n Lt.	4.5	41.1	879	29
<i>Lolium perenne</i> 2n Lt.	5.4	34.7	857	29
<i>Lolium multiflorum</i> 4n	3.8	47.4	877	24
<i>Lolium multiflorum</i> 2n	4.4	36.6	880	27
<i>Phleum pratense</i>	4.3	39.8	862	30
<i>Festuca arundinacea</i>	4.4	36.7	867	29
<i>Dactylis glomerata</i>	5.1	42.0	873	32
<i>Festuca pratensis</i>	4.5	44.2	872	32
Overige plantenmaterialen				
Luzerne	5.7	18.9	824	28
Aardappelloof jong	4.2	26.1	836	16
Aardappelloof oud	3.7	50.7	714	21
Erwtenloof	4.8	25.7	832	29
Bietenloof	12.0	79.7	680	9

10 \*) 4n en 2n: resp. tetraploid en diploid; Vr. en LT.:  
resp. vroeg- en laatbloeiend

\*\* ) ds: drogestof

15 Vervezelen van plantaardige biomassa levert een  
vezelfractie op die afhankelijk van de aard van het  
materiaal kan variëren van minder dan 10% tot meer dan  
30% van de drogestof. Het exacte getal is ook afhankelijk  
van de maaswijdte van de zeef waarmee de vezel

afgescheiden wordt en de intensiteit van wassen. De  
vezelfractie bestaat in het geval van *Lolium perenne* in  
de regel voor meer dan 80% uit celwandmateriaal en heeft  
een stikstofgehalte meestal lager dan 6-8 g per kg  
5 drogestof en een asgehalte meestal lager dan 50-100 g per  
kg drogestof.

Tabel 2. Samenstelling vezel

		refiner	lab-protocol
5	As (g/kg ds)	22.3	26.0
	Stikstof (g/kg ds)	5.3	4.4
	Celwanden (g/kg ds)	808	792

De samenstelling van de vezelfractie is vergelijkbaar  
10 voor de experimenten met de refiner en de experimenten  
volgens het lab-protocol.

## Ontvezeling

Tabel 3. Samenstelling van gras en van de ontvezelde  
grasslurrie.

5

		Gras	Ontvezelde slurrie	
			refiner	lab-protocol
As (g/kg ds)		92.6	138	139
10	Stikstof (g/kg ds)	31.0	47.4	48.7
	Celwanden (g/kg ds)	544	375	438

De ontvezelde slurrie bevat naast de  
celinhoudbestanddelen (zoals eiwit) ook een deel van de  
15 celwanden uit het plantenmateriaal. Dit zijn in hoofdzaak  
de celwanden uit het zachte parenchymatische weefsel die  
bij vervezelen desintegreren en vervolgens bij ontvezelen  
de zeef passeren als fijn gedispergeerd materiaal. De  
hoeveelheid aanwezig in de ontvezelde slurrie is mede-  
20 afhankelijk van de diameter van de zeefopeningen.

Tabel 4. Winbaarheid van ruw-eiwit uit geteelde grassen, per soort en ras gemiddeld gedurende het seizoen, en van enkele andere plantenmaterialen, bij malen+persen en bij ontvezelen.

5

Soort/Ras	Malen + persen (%)	Ontvezelen (%)
Grassen		
<i>Lolium perenne</i> 4n Vr.	30	95
<i>Lolium perenne</i> 2n Vr.	23	94
<i>Lolium perenne</i> 4n Lt.	22	95
<i>Lolium perenne</i> 2n Lt	16	94
<i>Lolium multiflorum</i> 4n	41	96
<i>Lolium multiflorum</i> 2n	35	95
<i>Phleum pratense</i>	11	94
<i>Festuca arundinacea</i>	21	94
<i>Dactylis glomerata</i>	31	93
<i>Festuca pratensis</i>	17	94
Overige materialen		
Luzerne	52	95
Aardappelloof jong	51	98
Aardappelloof oud	42	95
Erwtenloof	16	95
Bietenloof	24	95

Ontvezeling levert een slurrie die meestal meer dan 70%, en bij voorkeur meer dan 80% of 90% van alle ruw-eiwit uit het plantaardig materiaal bevat. Dit eiwit kan hieruit gewonnen worden door centrifugeren al dan niet voorafgegaan door hitte-coagulatie.

Bij de traditionele werkwijze van fractioneren bedraagt de winbaarheid van ruw-eiwit meestal minder dan 50%.



Tabel 5. Vergelijking van eiwitwinbaarheid uit gras bij herhaalde passage door hamermolen gevolgd door uitpersen in een schroefpers, en bij vervezelen volgens de uitvinding.

5

Eiwitwinbaarheid	
(%)	
Hamermolen +schroefpers	
10 Passages door hamermolen	
1x	28
2x	30
4x	35
15 8x	43
Vervezelen	93-96
volgens de uitvinding	

20 Ook bij herhaald desintegreren van gras in een hamermolen gevolgd door uitpersen in een schroefpers bleek de eiwitwinbaarheid minder dan de helft van de eiwitwinbaarheid gemeten bij vervezelen van gras.

25 De uitkomsten van de proeven met de Sunds Disk Refiner staan vermeld in Tabel 6.  
Keuze van plaattype en schijffafstand bepalen de mate van vervezeling maar slechts in geringe mate de eiwitwinbaarheid. Een hoge doorzet was mogelijk in  
30 combinatie met een hoge eiwitwinbaarheid (i.c. >85%) zowel met eiwitrijk cultuurgras als met eiwitarm natuurgas.

Aardappelloof is goed verwerkbaar met de refiner. In de  
35 vezelfractie is het gehalte aan houtige vezels relatief hoog omdat het oorspronkelijke aardappelloof naast bladweefsel ook uit stengelweefsel bestond. Het hoge asgehalte in de vezels van het aardappelloof werd in belangrijke mate veroorzaakt door het hoge zandgehalte in  
40 het loof als gevolg van het niet wassen van de grondstof.

Tabel 6. Vezelsamenstelling en eiwitwinbaarheid bij het ontsluiten van gras en aardappelloorf op semi-technische schaal met behulp van een Sunds Disk Refiner.

Grondstof	samenstelling grondstof			schijf		doorvoer	samenstelling vezel		eiwitwinbaarheid
	ds	as	N	Plaatweerstand	schijf-afstand		as	(g/kg ds)	
	(g/kg vers)	(g/kg ds)	(g/kg ds)		mm	(kg ds/uur)	(g/kg ds)	(g/kg ds)	(%)
cultuur-gras	154	91	19.3	hoog	0.4	-	13	5	91
cultuur-gras	142	183	36.1	hoog	0.10	39	31	14	87
"	"	"	"	hoog	0.50	55	27	15	86
"	"	"	"	hoog	1.00	104	38	15	86
"	"	"	"	laag	0.05	157	49	14	87
"	"	"	"	laag	0.10	135	41	14	87
"	"	"	"	laag	0.50	139	54	15	86
"	"	"	"	laag	1.00	211	82	20	82
natuur-gras	215	138	12.1	laag	0.10	-	41	6	84
aardappelloorf	104	342	23.5	hoog	0.20	-	473	15.2	-
"	119	344	27.0	laag	0.20	-	374	19.0	-

## Processchema's voor het refinieren van gras

### Voorbehandeling

5

Bijgevoegde processchema's (zie figuren 8 tot 10) gaan uit van de aanvoer van gehakseld gras zoals dit ook gebruikelijk is bij de verwerking van gras en luzerne in groenvoerdrogerijen. Normaliter ligt de haksellengte in de orde van grootte van enkele centimeters, maar deze kan ook langer of korter zijn. Voor de refiner-proef werd vers gras voorverkleind in een Pierret guillotinehakselaar op 6 mm deeltjeslengte, m.a.w. zeer kort. Vermoedelijk is zo'n korte lengte niet noodzakelijk; refinieren of vervezelen van uitgeperst gras (met een deeltjeslengte van vermoedelijk enkele centimeters) leverde geen problemen op.

### Wassen

20 Een wasstap zal waarschijnlijk in praktijk noodzakelijk zijn om zand te verwijderen en daarmee slijtage van apparatuur te verminderen en een schoner product te kunnen leveren. Deze wasstap kan mogelijk echter overgeslagen worden als zand en andere verontreinigingen niet aanwezig zijn.

### Sulfiettoevoeging

Toevoeging van sulfiet kan, maar hoeft niet, noodzakelijk zijn om ongewenste complexvorming tussen eiwitten en polyfenolen tegen te gaan. Op basis van ervaringen uit het verleden met de verwerking van grassap is bekend dat dergelijke complexvorming de nutritionele waarden van graseiwitten vermindert. De omstandigheden tijdens refinieren kunnen echter anders zijn. Een snelle temperatuurstijging

tijdens refinieren kan enzymatische activiteit acuut stoppen (blancheer-effect) en vorming van polyfenolen afremmen.

Refinieren: basisschema (fig. 8)

5

Refinieren van gras is in principe mogelijk met en zonder vloeistoftoevoeging tijdens het refinieren. In een eerste proef verliep het proces met vers gras (15% drogestof) niet vlot zonder een royale bijmenging van water tot een  
10 drogestofpercentage van ca. 2%. De noodzaak van vloeistoftoevoeging is waarschijnlijk mede afhankelijk van refinertype en aard van het gras (vezeligheid). Uitgeperst gras (26% drogestof) kon zonder watertoevoeging gerefined worden. Of en zo ja hoeveel water bijgemengd wordt heeft  
15 gevolgen voor de temperatuurstijging tijdens refinieren, en dus voor de mate van eiwitdenaturatie en daarmee voor de vervolgstappen in het proces.

Het basisschema kent na refinieren de processtappen: uitzeven  
20 van de vezel, hitte-coaguleren van de refinervloeistof gevolgd door afscheiding van de eiwitkoek middels een decanter en indampen van de onteiwitte vloeistof. Op dit basisschema zijn twee uiterste varianten denkbaar: één met een minimale toevoeging van vloeistof tijdens  
25 refinieren en één met een royale toevoeging van vloeistof. Het basisschema wordt dan gewijzigd tot resp. variant A (figuur 9) en variant B (figuur 10).

Refinieren: variant A (figuur 9)

30

Bij minimale toevoeging van retourvloeistof zal er mogelijk een flinke temperatuurstijging optreden tijdens refinieren: in de proef met uitgeperst gras tot boven 70°C.

Eiwitcoagulatie en pasteurisatie zullen dan tijdens het

refinen al optreden en mogelijk kan daardoor een aparte coagulatiestap overgeslagen worden. In dat geval wordt het processchema vereenvoudigd tot refinieren - zeven - decanteren - indampen: zie variant A op basisschema.

5

Refinieren: variant B (figuur 10)

Variant B: Bij een royale toevoeging van retourvloeistof kan de temperatuurstijging tijdens refinieren beperkt blijven: 10 in de proef met vers gras tot ca. 35° C. Daardoor zal vermoedelijk een deel van het eiwit in oplossing kunnen blijven. In dat geval zijn er na het refinieren twee alternatieve routes denkbaar. De meest simpele is na uitzeven van de vezel de vloeistof hitte-coaguleren en 15 decanteren. In dat geval ontstaat één eiwitkoek en een onteiwitte vloeistof die ingedampt kan worden (zie het basisschema). Een wat complexere route (variant B) is na uitzeven van de vezel eerst decanteren waarbij een ruwe eiwitkoek gewonnen wordt (ruw, d.w.z. met bijmenging van 20 fijn verdeelde parenchymatische celwanden die de zeef passeren), vervolgens hitte-coaguleren en opnieuw decanteren. Bij deze tweede decanteerstap wordt een zuiverder eiwitkoek gewonnen.

25 Uitzeven van de vezels

Voor het uitzeven van de vezels kunnen centrizeven ingezet worden zoals bekend bij de vakman voor het afscheiden van aardappelvezel. In de proef werd een hellingzeef gebruikt 30 bespannen met zeefgaas met openingen van 140 \* 140 micron. Op lab-schaal werd een zeef met gaatjesdiameter van 850 en 250 micron toegepast. De ervaring hiermee is dat de meeste vezels zich op een relatief grove zeef laten afscheiden. De fijnere vezelfractie kan toegevoegd worden aan de totale

vezelfractie of via enzymatische vervloeiing aan de melasse, concentraat of sapstroom.

5

Wassen en drogen van vezel

De vezel die door zeven afgescheiden wordt, zal mogelijk verontreinigd zijn met opgeloste en gesuspendeerde stof.

- 10 Wassen met onteiwitte retourvloeistof is dan dus nodig, gevolgd door vochtverwijdering middels persen/centrifugeren en drogen.

Drogen eiwitkoek

15

De eiwitrijke koek die middels decanteren afgescheiden wordt, kan op dezelfde wijze gedroogd worden als bijvoorbeeld bekend aan de vakman voor aardappeleiwit. In geval van de aanwezigheid van een relatief hoge

- 20 lipidefractie is toevoeging van een antioxidant product verbeterend.

Indampen onteiwitte vloeistof

- 25 De onteiwitte vloeistof kan ingedampt worden tot een suikerrijke siroop.

Uitbreidingen procesgang

- 30 Het basisschema kan verder uitgebreid worden met processen die tot doel hebben de ruwe eiwitkoek verder te raffineren. Eén mogelijke toevoeging is enzymatische vervloeiing van de parenchymatische celwanden in de ruwe eiwitkoek. De suikers

die dit oplevert, kunnen bijvoorbeeld toegevoegd worden aan de melasse, concentraat of sapstroom.

CONCLUSIES

1. Werkwijze voor het scheiden van componenten uit plantaardig materiaal welke tenminste blad- en/of stengel delen omvat met het kenmerk dat het materiaal op zijn minst ten dele vervezeld wordt en vervolgens zodanig wordt gescheiden in een vezelfractie en een sapstroom dat de vezelfractie voornamelijk relatief stevige weefsels zoals epidermis, sclerenchym en vaatbundels omvat en de sapstroom voornamelijk zachte weefsels zoals parenchym, en cytosol omvat.
2. Werkwijze volgens conclusie 1 waarin de sapstroom chloroplasten omvat.
3. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2 waarin het materiaal mechanisch vervezeld wordt.
4. Werkwijze volgens conclusie 3 waarin het materiaal vervezeld wordt middels een refiner.
5. Werkwijze volgens een der conclusies 1-4 waarin de vezelfractie middels zeven wordt gescheiden van de sapstroom.
6. Werkwijze volgens een der conclusie 1-5 waarin het plantaardig materiaal afkomstig is van een cultuurgewas.
7. Werkwijze volgens conclusie 6 waarin het cultuurgewas behoort tot de familie der grassen.
8. Vezelfractie verkregen middels een werkwijze volgens een der conclusies 1-7.
9. Gebruik van een vezelfractie volgens conclusie 8.
10. Gebruik van een vezelfractie volgens conclusie 9 voor de productie van energie of voor de productie van karton en/of papier.
11. Sapstroom verkregen middels een werkwijze volgens een der conclusies 1-7.



12. Sapstroom volgens conclusie 11 welke meer dan 55%, bij voorkeur meer dan 75%, bij voorkeur meer dan 90% van het ruw-eiwit van het plantaardige materiaal bevat.
13. Gebruik van een sapstroom volgens conclusie 11 of 12.
14. Gebruik van een sapstroom volgens conclusie 11 of 12 voor de productie van voedsel.
15. Gebruik van een sapstroom volgens conclusie 11 of 12 voor de winning of zuivering van tenminste een inhoudsstof.
16. Inrichting voor toepassing van een werkwijze volgens een der conclusies 1-7.
17. Inrichting volgens conclusie 16 welke tenminste een refiner omvat.
18. Inrichting waarin een werkwijze volgens een der conclusies 1-7 wordt toegepast.

UITTREKSEL

Titel: Ontsluiting van plantaardige grondstoffen.

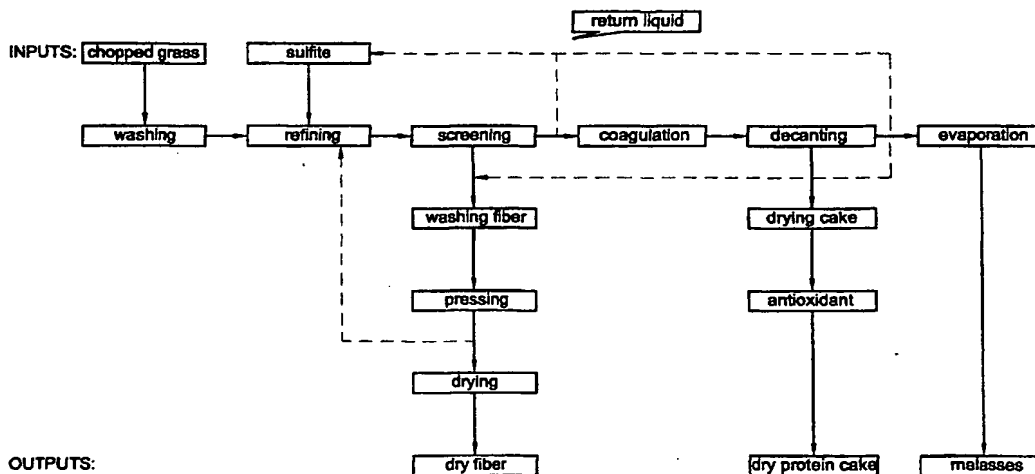
De uitvinding heeft betrekking op het scheiden en winnen van componenten uit plantaardige grondstoffen. De uitvinding voorziet in een werkwijze voor het scheiden van componenten uit plantaardig materiaal welke tenminste blad- en/of stengeldelen omvat met het kenmerk dat het materiaal op zijn minst ten dele vervezeld wordt en vervolgens zodanig wordt gescheiden in een vezelfractie en een sapstroom dat de vezelfractie voornamelijk relatief stevige weefsels zoals epidermis, sclerenchym en vaatbundels omvat en de sapstroom voornamelijk zachte weefsels zoals parenchym en cytosol bevat. In een voorkeursuitvoering voorziet de uitvinding in een methode tot scheiding van een sapstroom die met name chloroplasten omvat.



## INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification <sup>7</sup> : <b>D01B 1/42</b>		<b>A1</b>	(11) International Publication Number: <b>WO 00/40787</b>
			(43) International Publication Date: 13 July 2000 (13.07.00)
(21) International Application Number: PCT/NL99/00804 (22) International Filing Date: 24 December 1999 (24.12.99) (30) Priority Data: 1010975                      6 January 1999 (06.01.99)                      NL (71) Applicant (for all designated States except US): COÖPERATIEVE VERKOOP- EN PRODUCTIEV- ERENIGING VAN AARDAPPELMEEL EN DERIVATEN AVEBE B.A. [NL/NL]; Beneden Oosterdiep 27, NL-9641 JA Veendam (NL). (72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (for US only): HULST, Anne, Coenraad [NL/NL]; Julianalaan 57, NL-9461 BS Gieten (NL). KETE- LAARS, Jan, Josef, Maria, Hubert [NL/NL]; Torckpark 40, NL-6701 ED Wageningen (NL). SANDERS, Johan, Pieter, Marinus [NL/NL]; Saaksumberg 1, NL-9722 WL Gronin- gen (NL). (74) Agent: OTTEVANGERS, S., U.; Vereenigde, Nieuwe Parklaan 97, NL-2587 BN The Hague (NL).		(81) Designated States: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  Published With international search report. In English translation (filed in Dutch).	

(54) Title: ACCESSING LEAF AND/OR STEM PARTS OF PLANTS



## (57) Abstract

The invention relates to the separation and recovery of components from vegetable raw materials. The invention provides a method for separating components from vegetable material which comprises at least leaf and/or stem parts, characterized in that the material is at the least partly fiberized and subsequently is separated into a fiber fraction and a juice stream, such that the fiber fraction principally comprises relatively firm tissues such as epidermis, sclerenchyma and vascular bundles, and the juice stream principally contains soft tissues such as parenchyma and cytosol. In a preferred embodiment, the invention provides a method for separating a juice stream which comprises in particular chloroplasts.

Title: Accessing leaf and/or stem parts of plants.

The invention relates to the separation and recovery of components from vegetable raw materials.

Plants, like most organisms, are made up of cells. A plant cell consists of a lipid membrane with a generally aqueous content, the cytosol, which contains the various cell organelles (likewise surrounded by lipid membranes), such as nucleus, mitochondria, endoplasmic reticulum and chloroplasts, and the cytoskeleton, made up of microfilaments and microtubules, which gives the cell an inner structure. Also present in the plant cell are vacuoles which play an important role in keeping the plant cell under tension; the vacuoles maintain the turgor of the cell.

The constituent components of a plant cell can be roughly distinguished into water, which accounts for the greater part by far of a living cell, components such as salts, (precursors of) lipids, carbohydrates, amino acids and nucleotides, macromolecules such as starches, proteins and nucleic acid and a multiplicity of other molecules, including vitamins and pigments such as chlorophyll, carotene and xanthophyll.

A plant cell is generally surrounded by a cell wall which provides firmness and structure to the plant tissue. The cell wall is mainly built up from (hemi)cellulose and other carbohydrate polymers, which have aggregated to fibers. Woody plants further contain an ample amount of lignin, a polymer made up of phenols and other aromatic monomers.

Plant tissue is made up of plant cells, all of which, when living, basically satisfy the above description. An important distinction can be made between relatively firm tissues which comprise virtually no chloroplast or other plastid containing cells, and the relatively soft tissues which generally do. Tissues which generally comprise no chloroplast containing cells are, for instance, the epidermis or skin tissue of a plant, the collenchyma and sclerenchyma or stroma of a plant and the vascular

fiber bundles or the vascular tissue, comprising the important transport vessels (wood vessels and sieve tubes) in the plant. When a part of a plant is strongly lignified, in general, over time, the majority of the cells in the lignified part die off and only residues of the cell content are left. In particular the cytosol and the organelles present therein are lost, but the vascular fiber bundles, skin and stromas generally give the plant form and structure and generally remain present when the plant is dead. Characteristically, these relatively firm tissues (in particular vascular bundles, sclerenchyma and epidermis) comprise no to virtually no chloroplast containing cells, while an important part (at least in the aerial leaf and stem parts of the plant) of the relatively soft tissues, also called chlorenchyma, is made up chiefly of only chloroplast-containing parenchymal cells; indeed, this is where photosynthesis occurs.

It has long been known to recover various components from vegetable raw materials for further use in, for instance, food for human or feed for animal consumption through mechanical methods. Often, plants are merely comminuted or chopped to make them suitable for consumption, an example being the chopping of maize for feed.

However, in particular the components present in the plant cell cytosol are outstandingly suitable for human food or animal feed, since these can be building materials for corresponding components which are found in animal cells.

Mechanical processing is applied, for instance, to feed crops, such as grass, lucerne and other fresh and green harvested plants which, often as virtually whole plant, in particular the leaf and/or stem parts and in most cases not including the roots, are used for recovering, for instance, (animal) feed components. Such vegetable raw materials are generally recovered through pressing of (preferably chopped or otherwise comminuted) leaf and/or stem material, whereby a part of the vegetable material is obtained as press juice, while the residual and pressed material is known as press cake.

The pressure forces exerted by pressing generally result in the opening up (snapping or bursting) of plant cells in the material, so that the aqueous but food component-rich cytosol, possibly with residues of the organelles and the lipid membrane surrounding the cell, is liberated from the cell as press juice. Press juice is generally treated further, for instance through screening, whereafter, for instance, the protein in the juice is recovered by means of coagulation through, for instance, acid and/or heat treatment. Press juice may also be further processed through (ultra or membrane) filtration, drying, fermentation or other methods known to the skilled person. Protein-rich or otherwise high-grade nutrients for human and animal consumption, but also pigments such as carotene (provitamin A), can be recovered from cytosol in this way.

The resultant, relatively dry press cake is generally considered to be less rich in food; it contains relatively intact fiber bundles composed of (not directly) digestible cellulose fibers, adherent press juice and residual plant cells which have not been accessed under the influence of the pressing. Especially these residual plant cells with unrecovered cytosol give fodder value to the press cake, which is generally dried and, pelleted or otherwise, is used as relatively low-grade roughage component in fodders, in particular for ruminants.

For mechanically accessing, for instance, lucerne or grasses, traditionally a method is used which is based on the disintegration of the vegetable raw material by means of hammer mills followed by squeezing the disintegrated raw material (here designated as pulp) using screw presses or belt presses. The pulp is thereby separated into a press cake fraction and a press juice fraction. The juice fraction is regarded as the fraction in which the industrially recoverable content substances from the plant material are contained. Hammer mills typically consist of a rotor on which fixed or freely movable elements are disposed which upon rotation of the rotor are brought into contact with the vegetable raw material and disintegrate it through force of impact. The disintegratory effect of hammer mills is relatively large when the vegetable material has a good

turgor, i.e. when the plant cells are under tension. In that case, the force of impact causes the tissue to snap and causes the cell content constituents to be liberated with the tissue fluid. If turgor is low, beating the plant material will cause it to be compressed. The tissue then remains more or less intact and the result is that the cell content becomes available to a much lesser extent. This has major consequences for the recoverability of particularly those cell content constituents that are present in the vegetable biomass only partly in dissolved form and for another part in the form of solid, undissolved matter. This holds true inter alia for vegetable proteins, but also for lipids and pigments. Also known (for instance from US 5,464,160) are hammer mills where relatively dry material is separated into two fractions, this while neglecting the so valuable juice stream with protein-rich cytosol. Accordingly, these types of mills are not suitable for processing fresh, relatively wet material and eventually produce a relatively wet fiber fraction.

In the above-described methods of pressing vegetable material which contains at least leaf and/or stem parts, it is generally of importance that the material be processed while still as fresh as possible, shortly after harvesting. Only then are the plant cells sufficiently under tension to be able to burst or snap under pressure so that the cytosol is liberated. When, after harvesting, already some time has elapsed before the plant parts are pressed, they are already dried out to some extent by then, the plant cells present have lost a large part of the necessary turgor and are too slack to be able to snap or burst under pressure. Accordingly, in non-fresh material, the recovery of press juice will proceed with less efficiency. The same holds for material stemming from plants which, even before they were harvested, already lost a large part of the turgor in their plant cells through drying out and/or maturation. In general, such plants are not (completely) green anymore but acquire brown or yellow aspects. Lignified plant parts are altogether ineligible for the above methods, since most cells have died off in them, or in any case they contain only a very

minor cytosol fraction and hence do not contribute to the recovery of high-grade food.

In general, plant material is separated into a press cake fraction and a press juice fraction. Characteristic of this method is the only partial  
5 extraction (along with the press juice) of the cell content constituents (vacuole content and cytoplasm with cell organelles present therein, such as chloroplasts and cell nuclei); the cell walls are substantially completely left behind in the press cake together with the remainder of the cell  
10 content. Contained in the press cake are all tissues which are also contained in the raw material, and in addition also a part of the cell content. The color of the fresh press cake is predominantly green in that the chloroplasts having therein the chlorophyll (leaf green) present, have only been partly removed with the press juice. The plant material has only partly disintegrated down to tissue level; this means that still  
15 recognizable fragments of leaves and stems are present in addition to individual tissues such as isolated vascular bundles.

The press juice consists substantially of the aqueous content of cells: the vacuole content and the cytoplasm having therein cell organelles such as chloroplasts in intact or disintegrated form; cell wall constituents are  
20 substantially absent in that they remain behind in the press cake.

Consequently, the recoverability of protein and other partly soluble substances in the traditional method of fractionation is highly susceptible to variations in the nature of the vegetable biomass, in particular the presence of turgor, which is typically reflected in differences in dry matter  
25 content.

The traditional method of fractionation has as a consequence that upon squeezing the pulp, only a part of the cell content constituents end up in the juice stream and another part remains behind in the press cake. Accordingly, the press cake still contains, in addition to the greater part of  
30 the cell walls, a part of the cell content constituents and, by virtue of that, is used as fodder.



The existing pressing methods for separating high-grade from low-grade components from vegetable material are therefore relatively strongly dependent on the turgor of the cells present in the vegetable material, which limits the application of these methods to their application to relatively fresh and green material. Often, the resultant press cake, also when fresh and/or green material is used, still contains large amounts of unaccessed plant cells with high-grade cytosol in them, while only a low price can be obtained for press cake since it is in fact suitable only as a relatively low-grade component of animal fodder. For recovering high-grade components from leaf and/or stem parts, there is a need for better methods which can access the plant cell with a higher efficiency than the existing methods, can make the cytosol fraction more available for recovery, and affords better marketing possibilities for the fiber-containing residual material. The object of the invention is to provide for this need.

The invention provides a method for separation of components from vegetable material, such as leaf and/or stem parts, characterized in that the material is at the least partly fiberized and subsequently is separated into a fiber fraction and a juice stream, such that the fiber fraction chiefly comprises relatively firm tissues such as epidermis, sclerenchyma and vascular bundles, and the juice stream chiefly contains soft tissues such as parenchyma, and cytosol. In a preferred embodiment, the invention provides a method for separating a juice stream comprising in particular parenchyma with chloroplasts.

The invention provides a new method of fractionation which consists of at least two steps: a first step in which the vegetable material is fiberized through the action of shear forces and a second step in which the fiber fraction is separated from the rest. Fractionation of vegetable biomass means the separation into a number of fractions. By fractionating biomass, new product streams are formed with other application possibilities than the raw material itself. Consequently, these new product

streams jointly often represent more value than the original biomass. The invention provides a new technique which is based on fiberization and subsequent defibration of vegetable biomass.

In a preferred embodiment, the invention provides a method for  
5 separation of components from vegetable material, characterized in that the material is at the least partly mechanically fiberized and subsequently is separated into a fiber fraction and a juice stream, with the fiber fraction (see, for instance, Figs. 1 and 2, also for a comparison with a traditional method) principally comprising relatively firm tissues such as epidermis, sclerenchyma and vascular bundles, and the juice stream (see, for  
10 instance, Figs. 6 and 7, also for a comparison with a traditional method) principally containing soft tissues such as parenchyma, and cytosol. The mechanical fiberization is effected, for instance, through treatment of the material in a blender. Preferably, certainly when application on an  
15 industrial scale is desired, the fiberization is done, according to the invention, with an apparatus such as a (pressure) refiner, with grinding disks, such as employed in the pulp and paper industry, or in an apparatus of equivalent action by which the vegetable material can be fiberized to enable separation into a fiber fraction which principally  
20 comprises relatively firm tissues such as epidermis, sclerenchyma and vascular bundles, and the juice stream principally comprising soft tissues such as parenchyma, and cytosol.

The method according to the invention is applicable to all fiber containing vegetable materials, originating both from cultivated plants  
25 (crop plants) and from wild plants, as well as to crossing products of cultivated plants among themselves or with wild plants. Examples are: vegetable biomass originating from cultivated grassland, but also from natural grounds and roadsides, feed crops such as forage grasses and corn, lucerne, clover, and other papilionaceous plants, fiber crops such as flax  
30 and hemp, and the tops of crops normally grown solely for their seeds, fruits or tubers, such as grains, beets, peas, beans, potatoes, carrots, cassava, sweet potato.

In fiberization, the vascular tissue with the sclerenchyma and the epidermis (jointly the fiber fraction) is mechanically dissociated from the other, substantially parenchymal tissue. This parenchymal tissue is at the same time accessed and the cell content constituents from it thereby become available substantially completely. Fiberization can be done using refiners such as they are in use in the pulp and paper industry for fiberizing wood and wood pulp. Refining, or fiberization, typically occurs with addition of moisture to the plant material. The result is then a slurry of fiberized material from which the fibers can be removed. The fiber fraction (fiber stream) which is thus recovered, is suitable, through its nature and composition, inter alia for the following applications: as raw material for paper and cardboard (solid cardboard, folding cardboard and form cardboard), as raw material for the production of fiberboard materials (softboard, hardboard, chipboard, MDF, HDF and MDF/HDF form parts) and composites, as raw material for moisture absorbing materials, such as diapers, sanitary napkins, and so forth, as raw material for the preparation of growth media (potting compost and substrates), mulches (as protection against erosion, and as weed and disease suppressant), as soil improver or as fuel.

In defibration, the liberated fiber is separated, for instance through screening, from the other plant constituents. Through washing and screening, the fiber can be further purified and as many non-fiber constituents as possible can still be recovered with the washing water. The defibered slurry then consists of a mixture of added water, tissue fluid, cell content constituents and finely dispersed cell walls coming from the parenchymal tissue. From the defibered slurry or juice stream, content substances can be recovered in a more or less pure form, such as: proteins, peptides and amino acids, enzymes, pigments, lipids, fatty acids, starches, soluble sugars and (cell wall) carbohydrates for use in livestock feeding, human nourishment, or as substrate for fermentations, or, through concentration, fodder or food products can be made with a high nutritive value as a result of the removal of the non-digestible or poorly digestible

fiber fraction. The defibered slurry can be further fractionated in subsequent steps. One possibility is, for instance, the separation of all solid parts through centrifugation, which may or may not be preceded by a coagulation step through heating, acidification or otherwise. Another possibility is to convert the parenchymal cell walls into soluble sugars using cell wall splitting enzymes (pectinases, cellulases, etc.) and thus adding them to the fraction of dissolved substance in the defibered slurry.

Characteristic of the method as provided by the invention is the split at tissue level into a fiber fraction which contains the relatively firm tissues (vascular bundles, sclerenchyma and epidermis) and a defibered fraction which contains the relatively soft tissues (parenchyma) with their content. Briefly summarized, the difference between the traditional and novel method is the extraction of tissue fluid (traditional) versus tissue fractionation (new method).

The invention also provides an apparatus for practicing a method according to the invention. Such an apparatus is characterized by means suitable for the fiberization according to the invention, whereby the relatively firm vascular tissue with, for instance, the sclerenchyma and the epidermis (jointly the fiber fraction) is mechanically dissociated from the other, substantially parenchymal tissue. This parenchymal tissue is at the same time accessed and the cell content constituents therefrom thereby become available substantially completely. 'Fiberization' is herein understood to mean that the plant material is exposed to such forces that the relatively firm tissues are dissociated virtually completely from the relatively soft tissues. As a resultant of the forces which effect this fiberization, the great majority, if not virtually all, of the plant cells will be accessed, so that the cytosol is liberated. This cytosol, as a juice stream generally also including residues of the organelles and the cell surrounding lipid membrane and parenchymal cell walls, can be relatively simply separated from the fiber component through screening or through other separation means known to those skilled in the art.

A first advantage of the invention is that the efficiency of the method is not dependent on the turgor of the plant cells present in the material, so that the plant cells can be accessed with greater efficiency than is conventional in the above-described pressing methods.

5 A second advantage of the invention is that the invention provides two product streams which as such are very pure. A first one, the fiber fraction, contains principally cellulose and hemicellulose, principally consisting of the elements C, H and O (which in itself yields advantages for a clean combustion); a second one contains all valuable and complex  
10 content substances to be found in the parenchyma and cytosol, and which can be further separated relatively simply.

The two product streams can be separated from each other by, for instance, screening. Other separation methods than screening are also conceivable, for instance centrifugation, processing by (hydro)cyclone and  
15 centriscreening, and decanting or sedimentation, or combinations of these methods. In defibration, the liberated fiber is separated from the other plant constituents through, for instance, screening. By washing and screening, the fiber can be further purified and as many non-fiber constituents as possible can still be recovered with the washing water. The  
20 defibered slurry then consists of a mixture of added water, tissue fluid, cell content constituents and finely dispersed cell walls coming from the parenchymal tissue.

A first product stream as contemplated by the invention is a (generally nutritionally high-grade) juice stream consisting of an aqueous  
25 solution/suspension of virtually all high-grade components or nutrients from the vegetable material (such as sugars, fructose-oligosaccharides, proteins, lipids, pigments, and the like). Through removal of the (nutritionally low-grade) fiber components, there is formed (on a dry matter basis) this relatively high-grade product stream, from which the  
30 various components can be further isolated relatively simply. The defibered product or the juice stream consists substantially of parenchyma, partly as intact cells, partly as disintegrated cell material.

The color of the defibered product is typically green due to the presence of intact or broken chloroplasts, sometimes brown-green through browning during the fractionation. Macroscopically, it is a liquid. Microscopically, principally intact and disintegrated parenchyma cells and cell organelles such as chloroplasts are visible in this liquid.

The second product stream, the fiber fraction as contemplated by the invention, consists of the relatively hard tissues. These are typically the vascular bundles, the sclerenchyma and the epidermis. The cell content is absent from these tissues or is removed virtually completely during fractionation and washing. Consequently, fiber consists predominantly of cell wall components. Chloroplasts are virtually absent in a pure fiber preparation. The color of the washed fiber typically varies from white to yellow or light-brown. Sometimes, a light-green color may arise as a result of impregnation with chlorophyll during recovery. Macroscopically, the fiber fraction has a fiber structure principally through the filamentary character of the vascular bundles. Microscopically, in addition to the filamentary structures of vascular bundles and sclerenchyma, typically, pieces of epidermis tissue are also recognizable, consisting of sheets one cell layer thick. The vascular bundles are built up from several cells including wood vessels and sieve tubes. Depending on the extent of fiberization, fibers consisting of one cell occur too, and further the residues of cell walls and (spiral, reticulate or ring-shaped) cell wall thickenings. Typical of the epidermis sheets is the presence of stomata and silicious teeth or hairs.

The fiber stream as contemplated by the invention consists substantially exclusively of a wet solid fiber stream (chiefly cellulose and hemicellulose) basically having no nutritive value, since this fraction is not directly, and microbiologically only to a slight extent, digestible. However, the absence of digestibility makes it possible to use the fiber stream for non-food applications, this in contrast to, for instance, the press cake coming from the above-described traditional pressing methods where the press cake is in fact suitable only for fodder applications and would

soon rot if it were not prepared into food and was eaten or further preserved.

For example, the invention provides the use of a fiber fraction for the production of energy. The fiber fraction contains principally the carbohydrates cellulose and hemicellulose (composed principally of the elements C, H and O), which are eminently combustible and hence can be converted with a high efficiency to useful energy in, for instance, a combined heating and power station, and which may be expected to entail no or minor emission of harmful substances upon combustion. Processing plant material according to a method as contemplated by the invention, followed by the use of the resultant fiber fraction as fuel, will contribute to the reduction of the CO<sub>2</sub> emission, since what is involved here is a non-fossil fuel. Also, as such, the combustion of the fiber fraction will be cleaner for the environment, since the fiber fraction is hardly, if at all, contaminated with the salt residues (such as K, Na, Cl, P compounds) and protein residues (which include S and N compounds) normally occurring in dry plants. These salt residues and protein residues, coming from the cytosol, have been separated, along with the juice stream, from the fiber fraction. Combustion of the fiber fraction (having therein principally C, H and O compounds which are converted by combustion to H<sub>2</sub>O and CO<sub>2</sub>) will therefore entail a much lesser environmental impact than combustion of other plant material in which all these salt residues and protein residues are still present. Protein combustion contributes in particular to the emission of sulfur and nitrogen compounds such as sulfur and nitrogen oxides, and incombustible salt residues will contribute to the residual ash volume. Upon combustion of a fiber fraction according to the invention, the emission of, for instance, sulfur and nitrogen oxides, and the residual ash volume having therein the salt residues will be much smaller.

Since the fiber material is of organic origin, it is also applicable, for instance, as a peat substitute in, for instance, potting soil or in horticultural substrates.

In a preferred embodiment of the invention, the plant material is fiberized to such an extent that, for instance, the fiber material consists principally of elemental fibers, so that the so obtained fiber component or fiber stream is suitable, for instance, for further processing into cardboard and/or paper, or can be used as (natural) fiber in composites together with  
5 and in reinforcement of (artificial) resins.

Examples of vegetable material that can be treated with a method according to the invention are known (fodder) crops such as grasses (grains such as wheat, rye and maize included), lucerne, hemp, but also  
10 harvest residues of crops whose leaf and/or stem parts are normally not processed, such as potato or (sugar) beet tops which are generally left behind in the field upon harvesting; or crops which are generally not processed into juice, or are so processed on a limited scale only, such as spinach, lettuce and grass. The high efficiency of a method according to  
15 the invention renders the processing of such vegetable materials profitable.

The juice stream of plant materials processed according to a method contemplated by the invention is further treated, for instance through screening, whereafter, for instance, the protein, peptides, amino acids, and  
20 other components or content substances in the juice are recovered by, for instance, coagulation through, for instance, acid and/or heat treatment. The juice stream may also be further processed by (ultra or membrane) filtration, drying, fermentation, or other methods known to those skilled in the art. Protein-rich or otherwise high-grade nutrients for human and  
25 animal consumption, but also pigments such as carotene (provitamin A) can be recovered from cytosol in this way, also from that of leaf and/or stem parts.

Also eligible for processing in a method according to the invention is vegetable material not belonging to cultivated crops in the strict sense of  
30 the word, such as roadside grass mown along roads or highways, or mixtures of grasses and other wild plants mown in natural areas.



The invention further provides a method for separating components from vegetable material which has been harvested a relatively long time ago and has already, at least partly, dried out, or which can no longer be qualified as fresh and green, but has acquired a more woody and/or dry character for instance through maturation. Such material is not suitable for processing in a pressing method, but is now outstandingly processable, since the extent of turgor of the plant cell to be accessed is not important when a method according to the invention is used.

The invention provides a refiner, or an apparatus of comparable action, and the use of such an apparatus, for instance for separating components from vegetable material which does not (yet) exhibit any lignification, or exhibits only a minor extent of lignification, and in which parenchyma is present. This parenchyma with the cytosol present therein is the basis of the juice stream as contemplated by the invention. A refiner is generally used to break down wood chips into fibers for the purpose of making pulp for the production of paper and/or cardboard. The invention provides for the processing by means of a refiner, of a crop selected from a large variety of crops which traditionally have not been processed with a refiner. Refiners are generally not used for fresh and/or green material, since wood consists principally of dead or lignified tissue from which most parenchyma, with chloroplasts, has disappeared. Different types of refiners are known to those skilled in the art. There are, for instance, refiners with conical disks or with flat disks. The invention provides for the use of both types, and/or equivalent apparatuses, for instance convex/concave type composite grinding disks, in a method provided by the invention.

The invention will now be further explained in the experimental section of the description, without limiting it.

Experimental section

Experimentally, the invention was compared with the traditional technique. This was done using a lab(oratory) protocol and industrial equipment. On the basis of that, the nature of the fiber fraction can be assessed and the recoverability of content substances in the two methods can be compared. Results shown hereinbelow illustrate the difference in the recoverability of protein and other content substances.

#### Traditional method

In the experiments on a laboratory scale, the traditional method of grinding and pressing was simulated by pulping material in a Tecator Homogenizer and squeezing the pulp using an adapted draw pressure bench of Lloyd Instruments. It was provided with a cup having a perforated bottom plate (surface 50 cm<sup>2</sup>) in which 100 g of fresh pulp were pressed for 15 minutes at a pressure running up to 10 bar. The original material and the press juice were analyzed for nitrogen content, and the recoverability of protein was calculated as the amount of crude protein (amount of nitrogen multiplied by 6.25) in juice expressed as a percentage of the amount of crude protein in the original material.

On a larger scale, a hammer mill of the type Jenz A30 was employed to disintegrate grass and the thus obtained grass pulp was squeezed in a Vetter screw press with a compression ratio of 1:7.65 and a perforation of the cylinder wall of 0.7 mm. By passing plant material through the hammer mill a single time or several times, the material could be disintegrated to a greater or lesser extent.

#### New method

In the experiments on a laboratory scale, the new method was simulated by fine-chopping fresh grass in a cutter, then mixing 30 g of fine-cut grass pieces with 400 ml of water, and fiberizing same in a blender (Braun mixer) for 10 minutes, screening the slurry from the blender on an 850

micron screen, and washing and drying the screened-off fiber fraction. The fiber was analyzed for contents of nitrogen, ash and cell walls and thus the composition of the defibered slurry was calculated. The fiber yield was determined as the amount of dry matter in the fiber fraction as a  
5 percentage of the amount of dry matter in the starting material. The recoverability of protein was calculated as the amount of crude protein in the defibered slurry expressed as a percentage of the amount of crude protein in the original material.

10 The new method was also tested with a Sprout-Waldron 12 inch pressure refiner, with grinding disks of the type D2A505. Refining or fiberizing fresh grass was done under atmospheric conditions at a disk distance of 0.04 mm, with addition of water to a consistency of about 2% dry matter. The fiber was then screened on a screen with 140 micron openings.

15 The new method was also tested on a semitechnical scale using a Sunds Disk Refiner type RO 20 FLUFF serial no. 3838, year of manufacture 1985, provided with grinding disks with a high or low resistance to throughput. With this refiner, inter alia the effect of disk type and disk  
20 distance on throughput and fiber composition was investigated.

Refining occurred under atmospheric conditions with chopped grass, with or without addition of water. The fiberization of potato tops was also tested.

25 The grass originated from both cultivated grassland and natural grounds and was processed in fresh, chopped form. Samples of the fiberized material were rinsed by hand and screened and analyzed for nitrogen and ash content. The recoverability of crude protein was calculated on the  
30 basis of an average fiber proportion of 33% of the grass dry matter.

The potato tops originated from starch potato plants during the full growth phase of the potato plant. The tops were pulled mechanically and were consequently crushed to some extent. The potato tops consisted of stems and leaves. The potato tops, without prior washing, were processed  
5 with the refiner while fresh, without addition of water. The fiberized material was squeezed by hand.

## Experimental results:

### Description of the figures

#### 5 Figure 1 and Figure 2 (detail)

Press cake of grass (left) and grass fiber (right) stemming from perennial ryegrass (*Lolium perenne*).

10 In the press cake, the green color due to the presence of chloroplasts is conspicuous. Also, leaf fragments are recognizable by their size (cross section greater than 1 mm) and the characteristic ribs on the top of the leaf. The grass fiber is distinguished by the light color (virtually complete absence of chloroplasts), the filamentary structure and the small diameter of the individual fibers (in this case very much smaller than 1 mm). The distance between successive numbers is 1 cm.

15

#### Figure 3

Suspension of grass fiber from perennial ryegrass (*Lolium perenne*).

20 Visible are fibrous structures (vascular bundles) of a diameter of a few tens of micrometers and epidermis sheets of a smallest diameter of up to a few hundreds of micrometers.

#### Figure 4

25 Microscopic recording of epidermis in grass fiber originating from perennial ryegrass (*Lolium perenne*).

Characteristic is the presence of stomata in perennial ryegrass, concentrated in the epidermis of the top of the leaf. The more compact tissue on the side of the stomata is underlying sclerenchyma. The elongate  
30 epidermis cells have a cross section of about 20 micrometers.

**Figure 5**

Microscopic recording of vascular bundles in grass fiber originating from perennial ryegrass (*Lolium perenne*).

- 5 Characteristic of vascular bundles are their being built up from several cells and the presence of vessels with reticulate thickenings. The diameter of the fiber in the middle of the figure is about 50 micrometers.

**Figure 6**

- 10 Microscopic recording of parenchyma cells in the juice stream of defibered grass originating from perennial ryegrass (*Lolium perenne*). This juice stream belongs to the fiber fraction of Figures 1 and 2.

- Characteristic of parenchyma cells in grass leaves is the abundant presence of chloroplasts. Some parenchyma cells, however, have been  
15 broken during fractionation: only the cell wall is still visible, the chloroplasts occur in isolation in the surrounding fluid. The size of these parenchymal cells is about 20 \* 40 micrometers. The fraction shown in this figure was diluted prior to being photographed to bring out the relatively large amount of parenchyma cells in the juice stream according  
20 to the invention.

**Figure 7**

Microscopic recording of parenchyma cells in press juice from grass originating from perennial ryegrass (*Lolium perenne*).

- 25 This press juice belongs to the press cake of Figures 1 and 2. The fraction shown in this figure was concentrated prior to being photographed to bring out the relatively small amount of parenchyma cells in the press juice.

30

**Figure 8**

Process diagram for fiberizing or refining grass.

Figure 9

Process diagram for fiberizing or refining grass.

5 Figure 10

Process diagram for fiberizing or refining grass.

## Fiberization

Table 1. Fiber composition and fiber yield of cultivated grasses, by species and variety, on average during the season, and of a few other crops.

5

Species/variety	Nitrogen content (g/kg dm <sup>**</sup> )	Ash content (g/kg dm)	Cel wall content (g/kg dm)	Fiber yield % of dry matter in raw material
Grasses				
<i>Lolium perenne</i> 4n Vr.*	4.0	50.6	867	28
<i>Lolium perenne</i> 2n Vr.	4.3	43.5	865	34
<i>Lolium perenne</i> 4n Lt.	4.5	41.1	879	29
<i>Lolium perenne</i> 2n Lt.	5.4	34.7	857	29
<i>Lolium multiflorum</i> 4n	3.8	47.4	877	24
<i>Lolium multiflorum</i> 2n	4.4	36.6	880	27
<i>Phleum pratense</i>	4.3	39.8	862	30
<i>Festuca arundinacea</i>	4.4	36.7	867	29
<i>Dactylis glomerata</i>	5.1	42.0	873	32
<i>Festuca pratensis</i>	4.5	44.2	872	32
Other plant materials				
Lucerne	5.7	18.9	824	28
Potato tops young	4.2	26.1	836	16
Potato tops old	3.7	50.7	714	21
Pea tops	4.8	25.7	832	29
Beet tops	12.0	79.7	680	9

\*) 4n = tetraploid; 2n = diploid;

Vr. = early-flowering; Lt. = late-flowering

10

\*\*) dm: dry matter



Fiberizing vegetable biomass yields a fiber fraction which, depending on the nature of the material, can vary from less than 10% to more than 30% of the dry matter. The exact number is also dependent on the mesh of the screen with which the fiber is separated and the intensity of washing. The fiber fraction in the case of *Lolium perenne* typically consists for more than 80% of cell wall material and has a nitrogen content mostly lower than 6-8 g per kg of dry matter and an ash content mostly lower than 50-100 g per kg of dry matter.

Table 2. Composition of fiber

		refiner	lab protocol
Ash	(g/kg d.m.)	22.3	26.0
Nitrogen	(g/kg d.m.)	5.3	4.4
Cell walls	(g/kg d.m.)	808	792

The composition of the fiber fraction is comparable for the experiments with the refiner and the experiments according to the lab protocol.

## Defibration

Table 3. Composition of grass and of the defibered grass slurry.

		Grass	Defibered slurry	
			refiner	lab protocol
Ash	(g/kg d.m.)	92.6	138	139
Nitrogen	(g/kg d.m.)	31.0	47.4	48.7
Cell walls	(g/kg d.m.)	544	375	438

In addition to the cell content constituents (such as protein), the defibered slurry also contains a part of the cell walls from the plant material. These are substantially the cell walls from the soft parenchymal tissue which disintegrate upon fiberization and subsequently, in defibration, pass the screen as finely dispersed material. The amount present in the defibered slurry is partly dependent on the diameter of the screen orifices.

Table 4. Recoverability of crude protein from cultivated grasses, by species and variety, on average during the season, and of a few other plant materials, upon grinding+pressing and upon defibration.

Species/variety	Grinding+pressing (%)	Defibration (%)
Grasses		
<i>Lolium perenne</i> 4n Vr.	30	95
<i>Lolium perenne</i> 2n Vr.	23	94
<i>Lolium perenne</i> 4n Lt.	22	95
<i>Lolium perenne</i> 2n Lt	16	94
<i>Lolium multiflorum</i> 4n	41	96
<i>Lolium multiflorum</i> 2n	35	95
<i>Phleum pratense</i>	11	94
<i>Festuca arundinacea</i>	21	94
<i>Dactylis glomerata</i>	31	93
<i>Festuca pratensis</i>	17	94
Other materials		
Lucerne	52	95
Potato tops young	51	98
Potato tops old	42	95
Pea tops	16	95
Beet tops	24	95

Defibrination yields a slurry mostly containing more than 70%, and preferably more than 80% or 90%, of all crude protein from the vegetable material. This protein can be recovered from it by centrifugation, which may or may not be preceded by heat coagulation.

5

In the traditional method of fractionation, the recoverability of crude protein is mostly less than 50%.

Table 5. Comparison of protein recoverability from grass upon repeated passage through hammer mill followed by pressing in a screw press, and upon fiberization according to the invention.

Protein recoverability	
15 (%)	
Hammer mill+screw press	
Passages through hammer mill	
1x	28
20 2x	30
4x	35
8x	43
Fiberization	93-96
25 according to the invention	

Even upon repeated disintegration of grass in a hammer mill followed by pressing in a screw press, the protein recoverability was found to be less than half of the protein recoverability measured upon fiberization of grass.

30

The results of the tests with the Sunds Disk Refiner are summarized in Table 6.

Choice of plate type and disk distance determine the extent of fiberization but determine protein recoverability only to a slight extent. A high throughput was possible in combination with a high protein recoverability (in this case >85%) both with protein-rich cultivated grass and with  
5 protein-low natural grass.

Potato tops are well processable with the refiner. In the fiber fraction the content of woody fibers is relatively high because the original potato tops consisted not only of leaf tissue but also of stem tissue. The high ash  
10 content in the fibers of the potato tops was caused to an important extent by the high sand content in the tops due to not washing the raw material.

Table 6. Fiber composition and protein recoverability upon accessing grass and potato tops on a semitechnical scale using a Sunds Disk Refiner.

Raw material	composition raw material			disk		through-put (kg d.m./hour)	composition fiber		protein recoverability
	d.m.	ash (g/kg d.m.)	N (g/kg d.m.)	Plate resistance	disk distance mm		ash (g/kg d.m.)	N (g/kg d.m.)	
	(g/kg fresh)					(kg d.m./hour)			(%)
cultivat. grass	154	91	19.3	high	0.4	-	13	5	91
cultivat. grass	142	183	36.1	high	0.10	39	31	14	87
"	"	"	"	high	0.50	55	27	15	86
"	"	"	"	high	1.00	104	38	15	86
"	"	"	"	low	0.05	157	49	14	87
"	"	"	"	low	0.10	135	41	14	87
"	"	"	"	low	0.50	139	54	15	86
"	"	"	"	low	1.00	211	82	20	82
natural grass	215	138	12.1	low	0.10	-	41	6	84
potato tops	104	342	23.5	high	0.20	-	473	15.2	-
"	119	344	27.0	low	0.20	-	374	19.0	-

## Process diagrams for refining grass

### Pretreatment

5

The appended process diagrams (see Figures 8 to 10) start from the supply of chopped grass as is also conventional in the processing of grass and lucerne in herbage dryers. Normally, the chopping length is in the order of magnitude of a few centimeters, but it can also be longer or shorter. For the  
10 refiner test, fresh grass was pre-comminuted in a Pierret guillotine cutter to 6 mm particle length, in other words, very short. Presumably, such a short length is not requisite; refining or fiberizing squeezed grass (of a particle length of presumably a few centimeters) did not present any problems.

15 

### Washing

A washing step will probably be necessary in practice to remove sand and thereby reduce equipment wear and enable a cleaner product yield. This washing step, however, may be skipped if sand and other contaminants are  
20 not present.

### Sulfite addition

Addition of sulfite may be necessary, but need not be so, to prevent  
25 undesirable complexing between proteins and polyphenols. On the basis of past experiences regarding the processing of grass juice, it is known that such complex formation reduces the nutritive values of grass proteins. The circumstances during refining, however, may be different. A rapid temperature rise during refining may instantly stop enzymatic activity  
30 (blanching effect) and inhibit formation of polyphenols.

### Refining: basic diagram (Fig. 8)

Refining grass is in principle possible with and without liquid addition during refining. In a first test, with fresh grass (15% dry matter), the process did not proceed readily without generous admixture of water to a dry matter percentage of about 2%. The necessity of liquid addition is probably partly dependent on the type of refiner and the nature of the grass (fibrousness). Pressed grass (26% dry matter) could be refined without water addition. If, and if so, how much water is admixed, has consequences for the temperature rise during refining, and therefore for the extent of protein denaturation and hence for the subsequent steps in the process.

The basic diagram includes, after refining, the process steps: screening out the fiber, heat coagulating the refiner liquid followed by separation of the protein cake by means of a decanter and evaporation of the deproteinized liquid. Two extreme variants of this basic diagram are conceivable: one with a minimal addition of liquid during refining and one with ample addition of liquid. The basic diagram is then changed to variant A (Figure 9) and variant B (Figure 10), respectively.

### Refining: variant A (Figure 9)

Upon minimal addition of return liquid, possibly a substantial temperature rise will occur during refining: in the test with pressed grass to above 70°C. Protein coagulation and pasteurization will then occur already during refining and possibly a separate coagulation step may then be skipped. In that case, the process diagram is simplified to refining - screening - decanting - evaporation: see variant A on basic diagram.

### Refining: variant B (Figure 10)

Variant B: In case of ample addition of return liquid, the temperature rise during refining can remain limited: in the test with fresh grass to about 35° C. As a result, presumably, a part of the protein can remain in solution. In that case, after refining, two alternative routes are conceivable. The simplest one is, after screening out the fiber, to heat-coagulate the liquid and decant. In that case, one protein cake is formed and a deproteinized liquid that can be evaporated (see the basic diagram). A more complex route (variant B) comprises, after screening out the fiber, initial decanting whereby a crude protein cake is obtained (crude, i.e. with admixture of finely divided parenchymal cell walls that pass the screen), followed by heat-coagulation and decanting again. In this second decanting step, a purer protein cake is obtained.

### Screening out the fibers

For the purpose of screening out the fibers, centriscreens can be employed, as known to those skilled in the art for separating potato fiber. In the test, an inclined screen was used, having stretched onto it a wire gauze with openings of 140 \* 140 microns. On a lab scale, a screen with a hole diameter of 850 and 250 microns was used. Experiences with it are that most fibers can be separated on a relatively coarse screen. The finer fiber fraction can be added to the total fiber fraction or, via enzymatic deliquescence, to the molasses, concentrate or juice stream.

### Washing and drying of fiber

The fiber that is separated by screening may be contaminated with dissolved and suspended substance. Accordingly, washing with



deproteinized return liquid is then necessary, followed by moisture removal through pressing/centrifugation and drying.

#### Drying protein cake

5

The protein-rich cake which is separated through decanting can be dried in the same manner as is known to those skilled in the art for, for instance, potato protein. In case of the presence of a relatively high lipid fraction, addition of an antioxidant product has an improving effect.

10

#### Evaporation of deproteinized liquid

The deproteinized liquid can be evaporated to form a sugar-rich syrup.

#### 15 Extended procedure

The basic diagram can be expanded to include processes for the purpose of further refining the crude protein cake. One possible addition is enzymatic deliquescence of the parenchymal cell walls in the crude protein cake. The  
20 sugars which this yields can, for instance, be added to the molasses, concentrate or juice stream.

### CLAIMS

1. A method for separating components from vegetable material which comprises at least leaf and/or stem parts, characterized in that the material is at the least partly fiberized, and subsequently is separated into a fiber fraction and a juice stream, such that the fiber fraction principally comprises relatively firm tissues such as epidermis, sclerenchyma and vascular bundles, and the juice stream principally comprises soft tissues such as parenchyma, and cytosol.
2. A method according to claim 1, wherein the juice stream comprises chloroplasts.
3. A method according to claim 1 or 2, wherein the material is mechanically fiberized.
4. A method according to claim 3, wherein the material is fiberized by means of a refiner.
5. A method according to any one of claims 1-4, wherein the fiber fraction is separated from the juice stream through screening.
6. A method according to any one of claims 1-5, wherein the vegetable material originates from a cultivated crop.
7. A method according to claim 6, wherein the cultivated crop belongs to the family of grasses.
8. A fiber fraction obtained by a method according to any one of claims 1-7.
9. Use of a fiber fraction according to claim 8.
10. Use of a fiber fraction according to claim 9 for the production of energy or for the production of cardboard and/or paper.
11. A juice stream obtained by a method according to any one of claims 1-7.

12. A juice stream according to claim 11, which contains more than 55%, preferably more than 75%, preferably more than 90% of the crude protein of the vegetable material.
13. Use of a juice stream according to claim 11 or 12.
14. Use of a juice stream according to claim 11 or 12 for the production of food.
15. Use of a juice stream according to claim 11 or 12 for recovering or purifying at least a content substance.
16. An apparatus for carrying out a method according to any one of claims 1-7.
17. An apparatus according to claim 16 which comprises at least a refiner.
18. An apparatus in which a method according to any one of claims 1-7 is carried out.

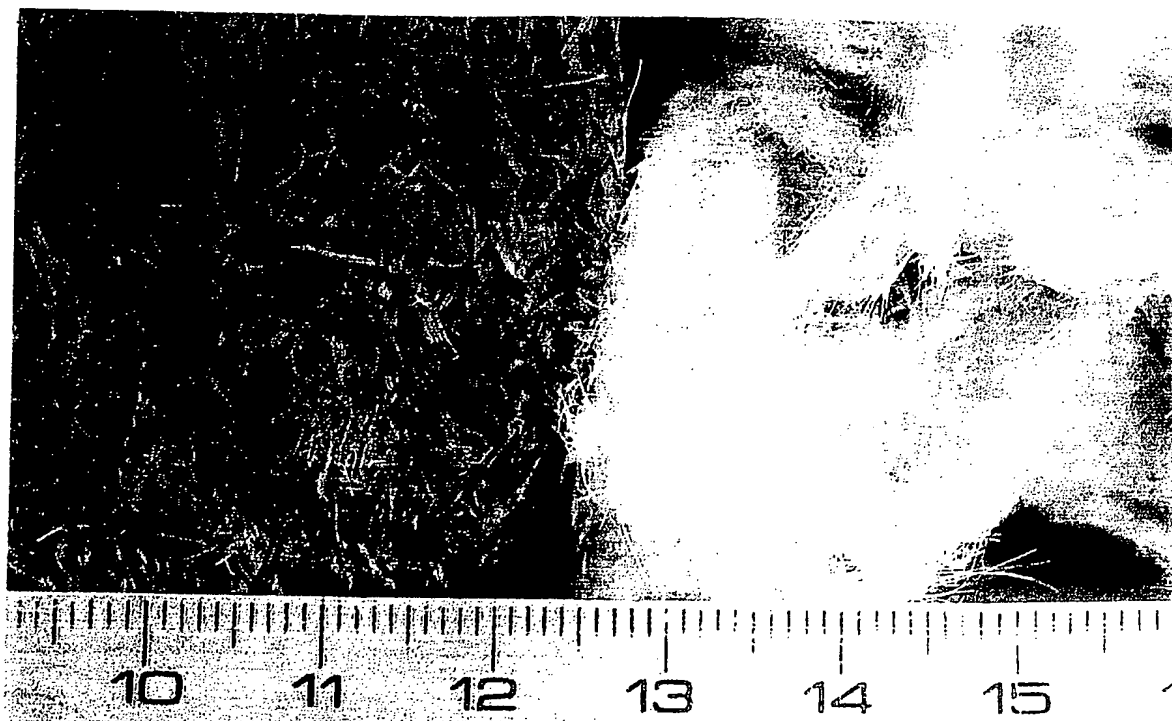


Fig. 1

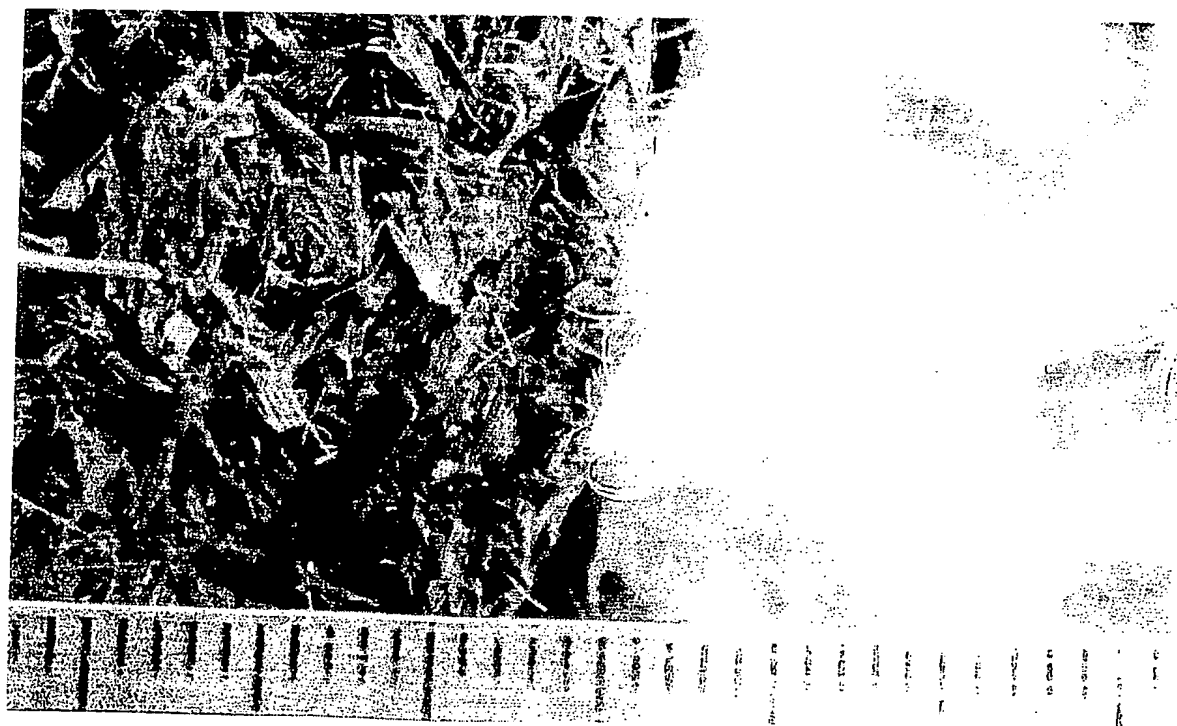


Fig. 2

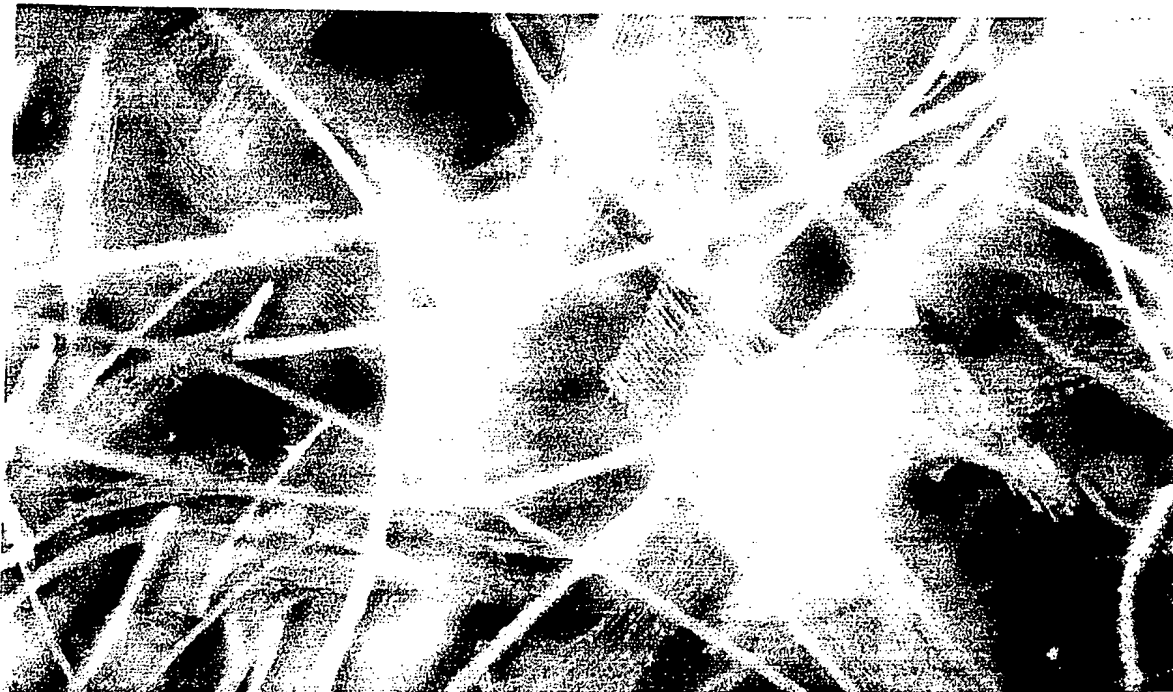


Fig. 3

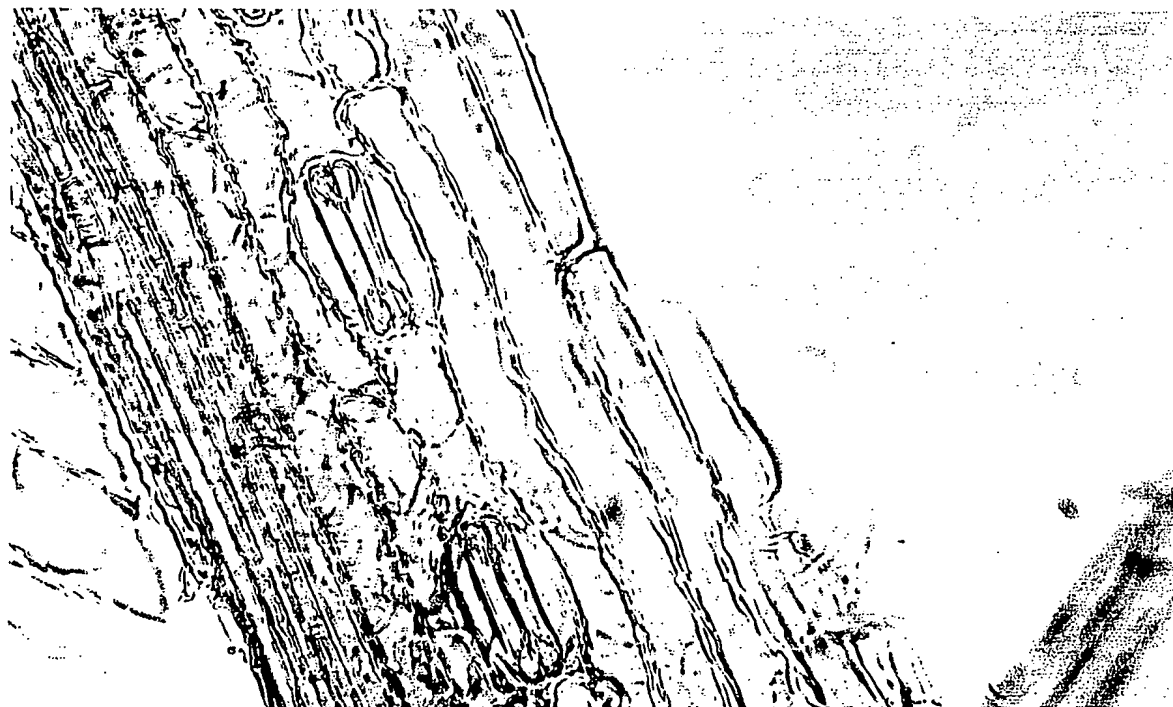


Fig. 4

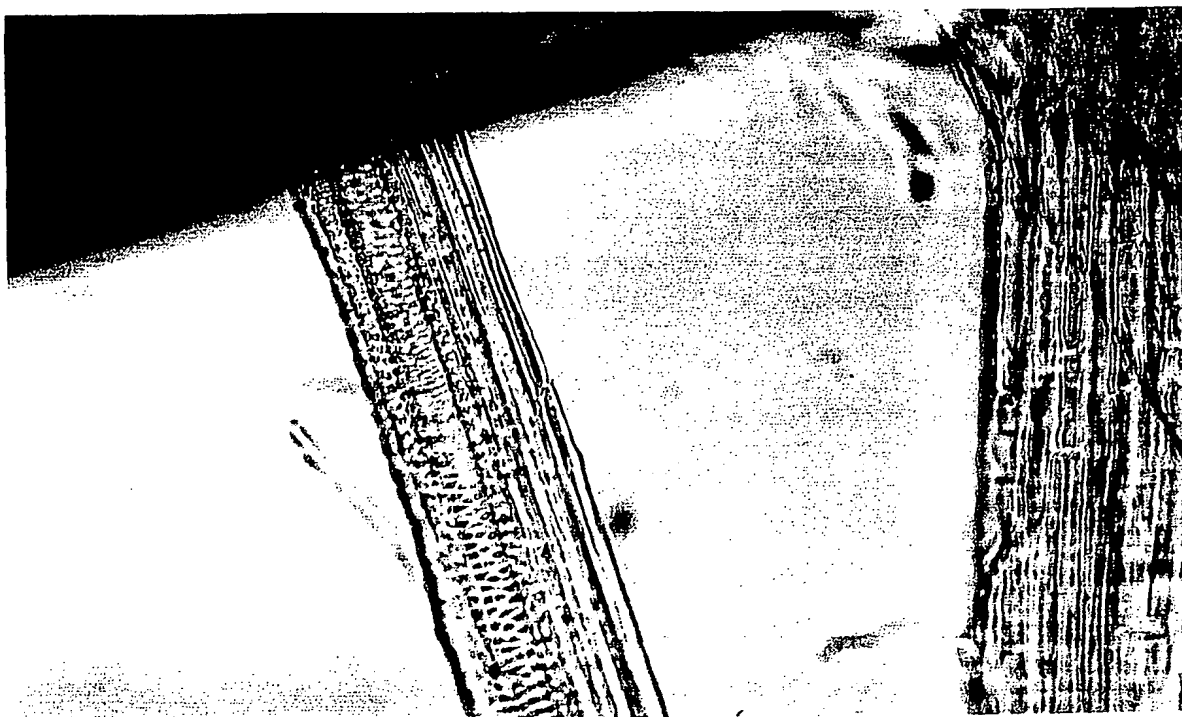


Fig. 5

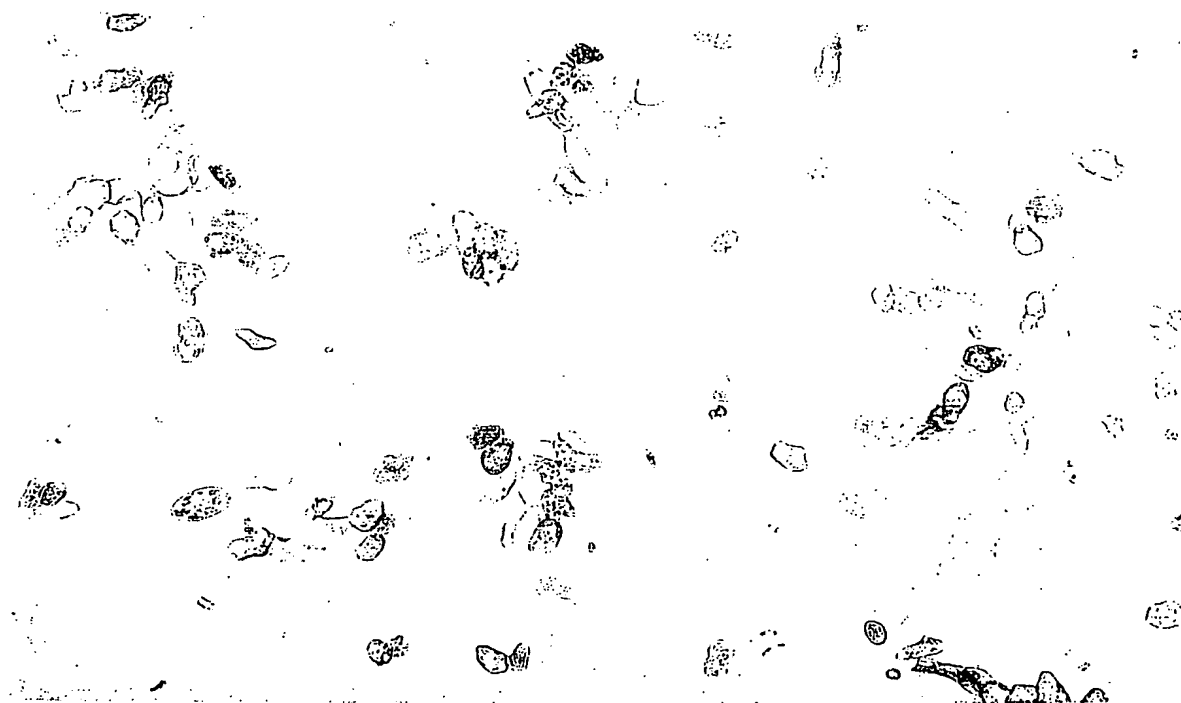


Fig. 6

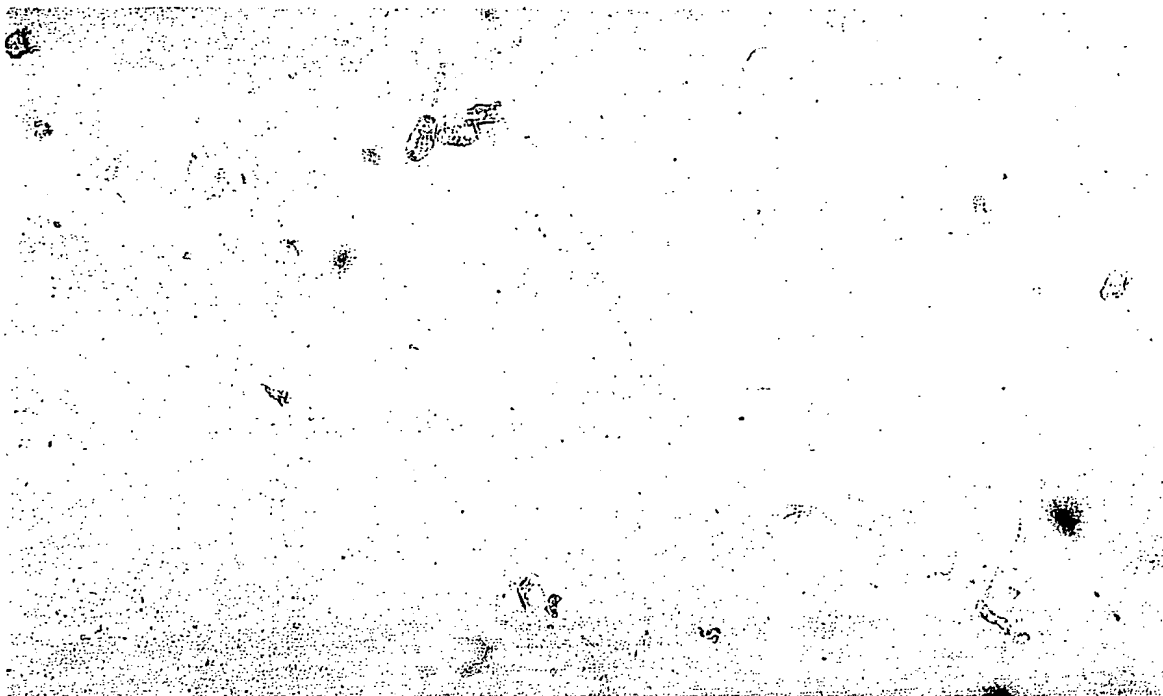


Fig. 7

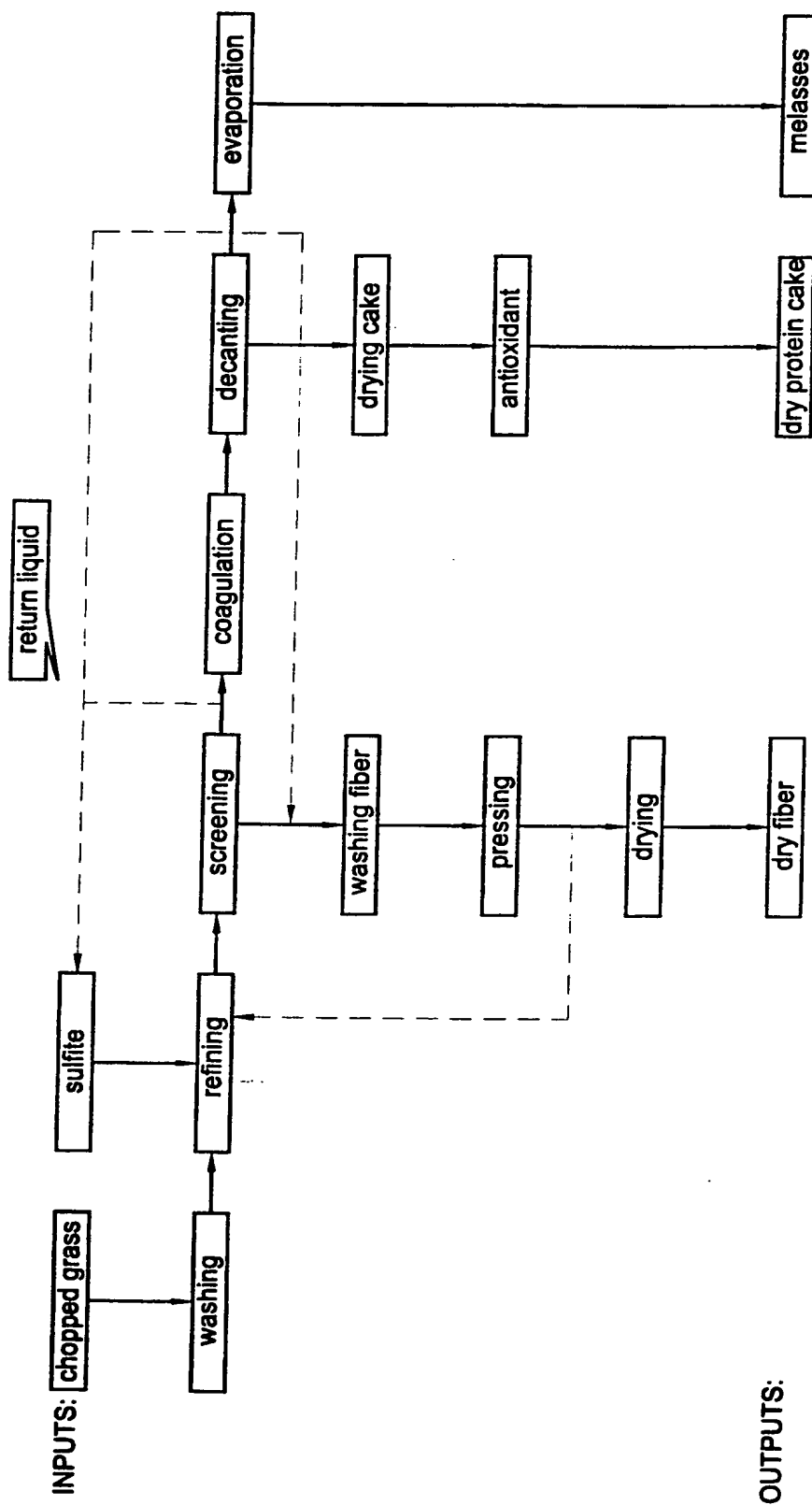


Fig. 8



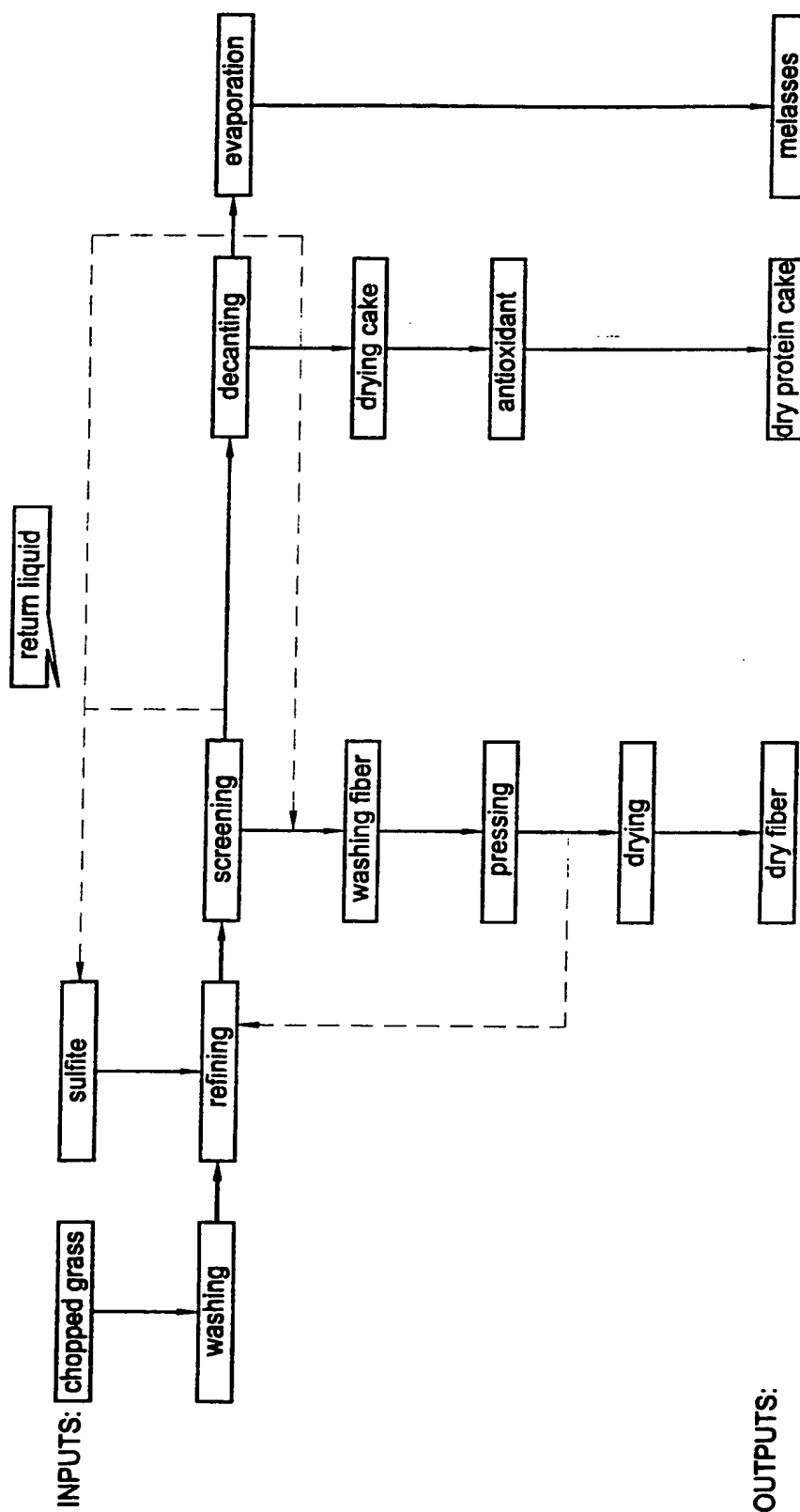


Fig. 9

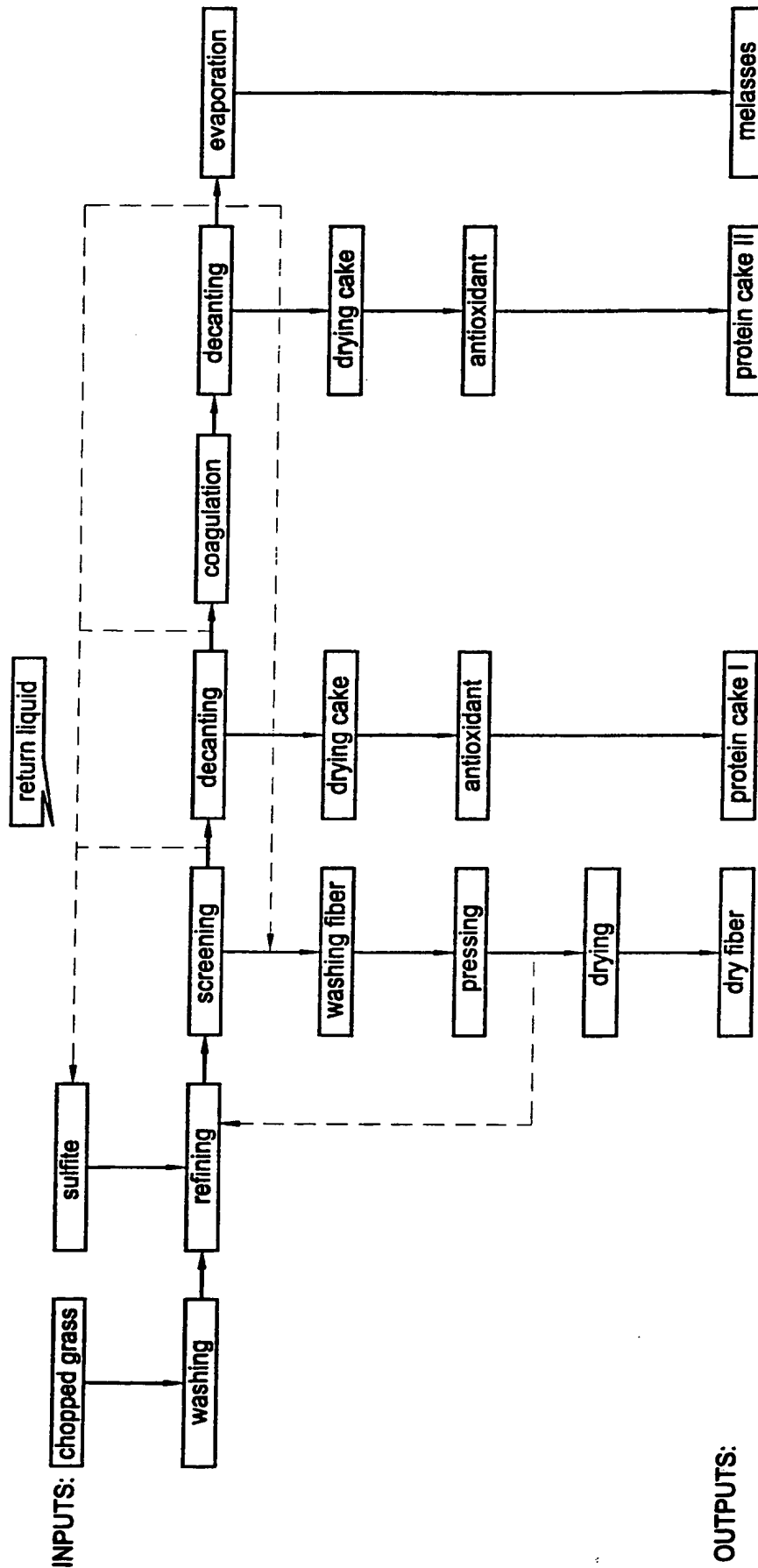


Fig. 10

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/NL 99/00804

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 D01B1/42

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 D01B A23J A23K C08B C13D D21D D01C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 464 160 A (DONALD MC, D.R.) 7 November 1995 (1995-11-07) cited in the application column 1, line 7 - line 45 column 2, line 13 - line 48 column 3, line 61 - column 6, line 61; claims 1,4,6,8; figures 12-14	1,3,5-8, 11
A	----	13-16,18
A	NL 52 591 C (BÜHRMANN'S, G.H. PAPIERGROOTHANDEL) 15 January 1942 (1942-01-15) the whole document ----- -/--	1-11,16, 18

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
"E" earlier document but published on or after the international filing date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 April 2000

Date of mailing of the international search report

17/04/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Munzer, E

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/NL 99/00804

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 481 355 A (JASKOWSKI, M.C.) 6 November 1984 (1984-11-06) column 1, line 8 - line 63 column 4, line 60 - column 6, line 9; claims 1, 14; figure 1	1
A	GB 658 129 A (WELCH, J.N.) the whole document	1, 10

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/NL 99/00804

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5464160	A	07-11-1995	NONE
NL 52591	C	NONE	
US 4481355	A	06-11-1984	BR 8405960 A 10-09-1985 CA 1209071 A 05-08-1986 US 4568739 A 04-02-1986 US 4617383 A 14-10-1986
GB 658129	A	NONE	

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference <b>P10000PC00</b>	<b>FOR FURTHER ACTION</b> see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, Item 5 below.	
International application No. <b>PCT/NL 99/ 00804</b>	International filing date (day/month/year) <b>24/12/1999</b>	(Earliest) Priority Date (day/month/year) <b>06/01/1999</b>
Applicant <b>COÖPERATIEVE VERKOOP- EN PRODUCTIE ... et al.</b>		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 3 sheets.



It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

## 1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the International search was carried out on the basis of the International application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.



the International search was carried out on the basis of a translation of the International application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the International application, the International search was carried out on the basis of the sequence listing :



contained in the International application in written form.



filed together with the International application in computer readable form.



furnished subsequently to this Authority in written form.



furnished subsequently to this Authority in computer readable form.



the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the International application as filed has been furnished.



the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

## 4. With regard to the title,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established by this Authority to read as follows:

## 5. With regard to the abstract,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this International search report, submit comments to this Authority.

## 6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.



as suggested by the applicant.



because the applicant failed to suggest a figure.



because this figure better characterizes the invention.

8



None of the figures.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/00804

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 D01B1/42

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 D01B A23J A23K C08B C13D D21D D01C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 464 160 A (DONALD MC,D.R.) 7 November 1995 (1995-11-07) cited in the application column 1, line 7 - line 45 column 2, line 13 - line 48 column 3, line 61 - column 6, line 61; claims 1,4,6,8; figures 12-14	1,3,5-8, 11
A		13-16,18
A	NL 52 591 C (BÜHRMANN'S,G.H. PAPIERGROOTHANDEL) 15 January 1942 (1942-01-15) the whole document	1-11,16, 18
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the International filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

5 April 2000

Date of mailing of the International search report

17/04/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Munzer, E

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

P 99/00804

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 481 355 A (JASKOWSKI, M.C.) 6 November 1984 (1984-11-06) column 1, line 8 - line 63 column 4, line 60 - column 6, line 9; claims 1, 14; figure 1	1
A	GB 658 129 A (WELCH, J.N.) the whole document	1, 10



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

P 99/00804

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5464160	A	07-11-1995	NONE	
NL 52591	C		NONE	
US 4481355	A	06-11-1984	BR 8405960 A	10-09-1985
			CA 1209071 A	05-08-1986
			US 4568739 A	04-02-1986
			US 4617383 A	14-10-1986
GB 658129	A		NONE	



Creation date: 01-28-2004  
Indexing Officer: KTRUONG1 - KHANH TRUONG  
Team: OIPEBackFileIndexing  
Dossier: 09869409

Legal Date: 08-02-2001

No.	Doccode	Number of pages
1	M905	1

Total number of pages: 1

Remarks:

Order of re-scan issued on .....